
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

NOTICE

Sur la vie et les travaux d'Émile Duclaux

Émile Duclaux est né à Aurillac, département du Cantal, le 24 juin 1840, de Justin Duclaux, huissier près le tribunal de cette ville, et d'Agnès Farges qui tenait un petit commerce d'épicerie au coin de la rue Neuve et de la rue Marinie, aujourd'hui rue Victor-Hugo.

Justin Duclaux¹, suivant une coutume fort ancienne en Auvergne, avait voyagé en Espagne; c'était un homme instruit, d'esprit ouvert et de jugement sain. Il n'avait point le cœur insensible que l'on attribue volontiers aux huissiers, il accordait aux débiteurs tous les délais possibles. Avec lui, les protêts n'étaient enregistrés qu'à la dernière minute; alors, son fils Émile courait au bureau de l'enregistrement; d'où la légende que É. Duclaux avait été saute-ruisseau et clerc d'huissier. Sa mère, femme d'une parfaite bonté, se distinguait par sa simplicité, son bon sens, son amour de l'ordre et un grand désir d'obliger. Elle eut deux autres fils: Louis et Eugène; ce dernier mourut en 1866.

1. Justin Duclaux descendait d'une famille de la haute Auvergne, les Pichot-Duclos, alliés au conventionnel Hébrard.

Le père d'Agnès Farges, Pierre Farges, appartenait à une famille de petits propriétaires terriens fixés dans la paroisse de Crandelles, puis dans celle d'Ytrac. On peut suivre leur trace jusqu'en 1624. A la veille de la Révolution, l'arrière-grand-père, Louis Farges, était receveur des dîmes de l'abbaye d'Aurillac. Tous les Farges, durant cinq générations, avaient commercé en Espagne.

Ces détails sur la famille de É. Duclaux ont été communiqués par M. Louis Farges, son cousin.

Le père d'Émile Duclaux fut son premier maître, il lui montra à lire et veilla ensuite à son éducation avec un dévouement persévérant. Le jeune Émile était son compagnon et c'est au cours de leurs promenades à travers ce beau pays d'Auvergne qu'il prit le goût des choses de la nature et l'amour du sol natal.

La première école fréquentée par É. Duclaux fut celle de M^{lle} Lieurade, qui tenait une classe enfantine. Puis, il fit d'excellentes études classiques au collège communal, en compagnie de camarades aussi travailleurs que lui, parmi lesquels ses amis le docteur Jules Rengade et J.-B. Rames, plus tard pharmacien à Aurillac et passionné géologue de la région du Cantal. Un professeur de mathématiques, M. Appert, exerça sur le futur savant une véritable influence; Duclaux lui a témoigné sa reconnaissance dans une notice que les anciens élèves d'Appert n'ont pu lire sans émotion.

Jusqu'à l'âge de dix-sept ans, Duclaux a donc vécu dans un milieu familial modeste, laborieux, mais avisé et instruit, avec des camarades un peu rudes sans doute, mais intelligents et travailleurs, dans une province montagneuse, au climat rigoureux, aux paysages admirables. Ces circonstances expliquent les habitudes de travail de toute sa vie, la franchise de son caractère, sa simplicité, sa ténacité et aussi le tour poétique de son esprit que révélait sa parole imagée et évocatrice.

Après avoir appris au collège d'Aurillac tout ce qu'on y enseignait, É. Duclaux vint à Paris en 1857 et suivit la classe de mathématiques spéciales du lycée Saint-Louis comme élève de l'institution Barbet-Massin. Reçu en même temps (1859) à l'École polytechnique et à l'École normale supérieure, il choisit l'École normale et en sortit agrégé des sciences physiques en 1862. Pasteur l'admit alors dans son laboratoire en qualité d'agrégé-préparateur; Duclaux y trouva la direction scientifique de toute sa vie.

En 1865, après avoir soutenu sa thèse pour le doctorat-ès-sciences physiques, il est nommé professeur au lycée de Tours. Il se lia d'amitié avec un de ses collègues déjà âgé, M. de Tastes, physicien distingué et observateur sagace qui l'initia à la météorologie.

Une année plus tard, Duclaux était appelé à la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand comme suppléant de la chaire de

chimie. Son père était mort en 1860 ; sa mère vint s'installer avec lui rue Montlosier. Malgré quelques difficultés avec le titulaire de la chaire, M. Aubergier, Duclaux trouva dans la capitale de la Basse-Auvergne un lieu propice au travail. Le laboratoire de la faculté manquait d'outillage, mais le nouveau professeur savait faire beaucoup avec de petits moyens. D'ailleurs, il avait rencontré plusieurs anciens élèves de l'Ecole normale, professeurs au lycée, et ils formaient entre eux une société de jeunes savants passionnés pour la science et les idées généreuses. Le cours fini, Duclaux se rendait près d'Alais, à Pont-Gisquet, pour aider M. Pasteur dans ses études sur la maladie des vers à soie.

La guerre de 1870, puis la Commune empêchaient Pasteur de rentrer à Paris ; il vint à Clermont près de son élève, très fier de lui ouvrir sa maison et son laboratoire. Pour se consoler des malheurs de la patrie, Pasteur projetait toute une série de recherches sur les industries de la fermentation. Tout d'abord il voulait étudier scientifiquement la fabrication de la bière où les Allemands étaient passés maîtres. Les expériences commencées au laboratoire étaient répétées sur une plus grande échelle à la brasserie Kuhn, située à Chamalières, entre Clermont et Royat ; elles ont abouti aux célèbres *Etudes sur la bière* qui ont renouvelé l'industrie du brasseur.

Duclaux pensait, lui aussi, qu'un des plus puissants moyens de relèvement de la France était le développement de l'enseignement supérieur. Une centaine de jeunes gens, presque tous étudiants en médecine, étaient réunis à Clermont et surtout occupés de leurs études professionnelles. Duclaux essaya d'élargir leur horizon et de donner au moins à quelques-uns d'entre eux le goût de la recherche scientifique. Pour cela, il faisait des conférences où il exposait la doctrine de Pasteur et annonçait la révolution qu'elle allait apporter en chirurgie et en médecine. Il ouvrit aussi un cours supplémentaire de chimie biologique. Duclaux avait le don de l'enseignement : à l'heure de sa leçon, les étudiants désertaient l'École de médecine pour l'amphithéâtre de la Faculté des Sciences. Aucun professeur n'avait autant d'action sur les élèves ; il exposait si clairement le sujet que tout le monde comprenait, et sa parole était celle du savant brûlant du « feu sacré ». Il donnait à réfléchir, de sorte que, le

cours fini, on vivait encore avec lui. A l'écouter, beaucoup sentaient naître en eux la passion de la chimie et le désir d'expérimenter. Ces vocations n'ont point toutes persisté et les auditeurs de Duclaux ne sont pas tous devenus chimistes, mais tous ont gardé pour leur professeur une affection et une admiration durables.

Cet enseignement lui permit de choisir, parmi les plus zélés, quelques étudiants qu'il admit à son laboratoire et qu'il prenait plaisir à initier à la méthode expérimentale. Duclaux était un maître attentif : tout en fredonnant, il surveillait une distillation fractionnée et suivait les manipulations de ses disciples; il faisait impitoyablement recommencer celles mal réussies et les analyses entachées d'erreur. Il ne prodiguait pas les éloges; quand il était satisfait, une fois la journée finie, il vous invitait à l'accompagner en causant jusqu'à sa porte. La grande récompense consistait en excursions, faites avec lui le dimanche, dans la vallée de Fontana, vers le puy de Dôme. Du sommet de cet admirable observatoire, il se plaisait à expliquer les mouvements de la chaîne des puys et des coulées volcaniques. Pendant ces heures de vie au grand air, Duclaux était le plus charmant des compagnons, d'une gaieté spontanée et profonde. La journée se terminait en famille à la table de « maman Duclaux », dans l'appartement de la rue Montlosier. C'était vraiment un bonheur pour un débutant dans la carrière scientifique de rencontrer un maître comme Duclaux.

En 1873, Duclaux quitta Clermont-Ferrand pour Lyon où il était appelé à la chaire de physique de la Faculté des Sciences. Il s'y révéla aussi bon professeur de physique qu'il s'était montré bon professeur de chimie, bientôt il occupa une place à part, à cause de son autorité sur les étudiants et de son influence, dans les conseils de la Faculté. C'est à cette époque qu'il épousa M^{lle} Mathilde Briot, la fille de l'éminent mathématicien. Duclaux trouva le bonheur dans cette union. Sa femme avait de la grâce, l'âme délicate, l'esprit fin et le jugement solide. Elle lui donna deux fils, et les vœux de Duclaux étaient comblés, lorsqu'en 1878 il fut nommé, au concours, professeur de météorologie à l'Institut agronomique et chargé en même temps d'une conférence de chimie biologique à la Sorbonne.

Jusqu'alors, Duclaux avait été tenu éloigné de sa science de

prédilection, de cette microbiologie qu'il avait vue naître chez Pasteur. Il allait donc enfin pouvoir l'enseigner et la répandre. Le nouveau maître de conférences n'avait à sa disposition aucun laboratoire, et si Pasteur ne lui avait pas donné asile dans le sien à l'École normale, Duclaux aurait été obligé de parler de microbes à ses auditeurs sans leur en montrer aucun. Avant chaque leçon, on transportait, dans un panier, cultures et microscopes, de la rue d'Ulm jusqu'à la Sorbonne.

Malgré tout, Duclaux se tenait pour satisfait, lorsqu'il fut atteint par le plus affreux des malheurs : sa femme mourait quelques semaines après avoir mis au monde un troisième enfant. Pendant vingt années, cette perte assombrit la vie de Duclaux, il pensait toujours à la disparue. Il cherchait un allègement à sa peine près de son beau-père et de M^{me} Briot qui prenait soin des petits enfants. C'était un spectacle touchant que celui de ces deux hommes de haute culture et de grande force morale réunissant leur douleur pour la sentir moins lourde. Briot mourait lui-même en 1882.

Duclaux déploie alors une activité incroyable : dans la journée, il se prodigue à l'Institut agronomique et à la Sorbonne ; le matin et le soir, il est à sa table de travail. Pas un instant il ne reste oisif. Il publie son livre, *Ferments et Maladies*, dédié à la mémoire de sa femme et né d'une pensée touchante. M^{me} Duclaux avait succombé à une infection puerpérale ; Duclaux, convaincu que les progrès dus à la théorie pastorienne feront bientôt disparaître ces infections, veut hâter ce moment en faisant connaître aux médecins la doctrine nouvelle. Son ouvrage qui a pour titre *Microbiologie* paraît en 1883 et celui intitulé *Fermentation* en 1884.

Ce labeur intense distrait Duclaux de son chagrin. Il écrivait avec une facilité extraordinaire parce qu'il ne prenait la plume qu'après avoir beaucoup réfléchi. Il couvrait les pages d'une écriture fine, régulière, plaisante à l'œil, paraissant facile à lire, mais qui réservait plus d'une difficulté à qui n'avait pas l'habitude de la déchiffrer. Duclaux suit, au jour le jour, les travaux du laboratoire de Pasteur sur le choléra des poules, le charbon, la rage, l'atténuation des virus. Pendant les vacances, il s'installe au Fau, dans le Cantal, où il a établi, en plein pâturage, une station laitière. Il étudie sur place la com-

position du lait, la fabrication de la fourme d'Auvergne et les perfectionnements à y apporter.

Après la grande découverte du traitement préventif de la rage, en 1885, l'Institut Pasteur est fondé. Duclaux, nommé professeur titulaire à la Sorbonne, transporte son enseignement dans le nouvel Institut (1888), et lui donne un organe pour la publication de ses travaux en faisant paraître les *Annales de l'Institut Pasteur* (1887). Les articles originaux et les revues critiques qu'il y écrit en assurent promptement le succès. Jusqu'à la veille de sa mort, il n'a cessé de s'en occuper, choisissant et revoyant les mémoires, corrigeant lui-même les épreuves.

Depuis 1888, la vie de Duclaux est confondue avec celle de l'Institut Pasteur ; il s'efforce d'y attirer les travailleurs et de le doter de ce qui lui manque.

A la mort de Pasteur, en 1895, il prend la direction et fait de ce grand établissement une sorte de « coopérative scientifique » où, tout en conservant l'indépendance de ses idées, chacun travaille en vue d'un but commun. Duclaux est le vrai chef qui convient à cette maison, son autorité est aimée et respectée parce qu'elle est celle du plus digne.

Pendant huit années qu'il reste à sa tête, l'Institut Pasteur ne cesse de grandir. Grâce à une généreuse anonyme, les terrains qui s'étendent de la rue Dutot à la rue de Vaugirard sont achetés, l'hôpital Pasteur est construit. A côté de lui, s'élève l'Institut de Chimie biologique fondé par la libéralité de la baronne de Hirsch. Duclaux ne craignit pas de faire grand tant il avait confiance dans l'avenir de l'Institut Pasteur qui, disait-il, sortirait plus robuste de cette crise de croissance.

Dès 1888, Duclaux était entré à l'Académie des Sciences, dans la section d'Économie rurale, en 1894 à l'Académie de Médecine en qualité de membre libre, et en 1890 à la Société nationale d'Agriculture.

Duclaux ne s'était jamais occupé de politique, il avait toujours vécu loin des affaires publiques, retiré dans la « tour d'ivoire » des spéculations scientifiques, lorsque survint l'« affaire » qui a tant agité la France. Il se jeta dans la mêlée, publia brochures et articles de journaux, parut dans les réunions publiques. Beaucoup le lui ont reproché sans comprendre les motifs qui avaient ému cette âme ardente et délicate. Il s'exposait à

l'orage par devoir, par amour pour son pays. Il croyait que tout citoyen qui a la nette conscience que le droit et la justice ont été méconnus doit le proclamer. Dans cette période tourmentée, Duclaux a fait preuve du plus rare courage, du plus généreux talent, il a dépensé au delà de ses forces. Pour lui, tout le mal venait de la mauvaise tournure donnée à l'esprit par l'éducation actuelle, il voulait que l'on reprît tout par la base et qu'on apprît aux gens à penser. Aussi a-t-il contribué de tout son cœur aux entreprises d'éducation populaire nées dans ces dernières années.

Un grand bonheur survint qui rasséréna sa vie. En 1901, Duclaux épousait une femme d'aussi grand cœur que de grand talent, M^{me} James Darmesteter (Mary Robinson).

Revenu tout entier à ses occupations scientifiques, il s'y livrait avec une allégresse qui témoignait de sa joie intime, lorsqu'en janvier 1902 il fut terrassé par une première attaque. Soigné avec la plus tendre sollicitude, il était debout après quelques mois, ne conservant qu'un peu d'embarras de la parole et de paresse de la main.

Duclaux connaissait la gravité de l'accident qu'il avait subi, mais il avait trop l'habitude du travail, pour rester longtemps inactif. Il se remit à écrire pour les *Annales* et, après un repos au pays natal, il reprit son cours au printemps de 1903. C'était une imprudence, il dut l'interrompre ses leçons. Duclaux était résolu à renoncer à l'enseignement ; déjà, il prenait ses dispositions pour se faire remplacer à la Sorbonne quand, dans la soirée du 2 mai 1904, il perdait subitement connaissance. Il mourait dans la nuit.

Duclaux ne parlait jamais de lui. Aussi les lignes qui précèdent ne peuvent-elles donner qu'une idée incomplète de sa vie intime. Les amis qui ont été le plus mêlés à son existence n'ont jamais surpris en lui la moindre défaillance morale ; il reste pour eux le modèle auquel ils voudraient ressembler.

*
* *

La carrière scientifique d'É. Duclaux date de son entrée au laboratoire de Pasteur en 1862. A cette époque, on était en pleine querelle des générations spontanées. Pasteur soutenait que les

fermentations sont causées par des êtres microscopiques provenant de parents semblables à eux; Joly, Pouchet et Musset prétendaient au contraire que les êtres microscopiques naissent spontanément dans les liquides organiques. C'était le temps où venaient fréquemment, au laboratoire de la rue d'Ulm, Dumas et Balard, membres de la Commission nommée par l'Académie des Sciences pour se prononcer entre Pasteur et les hétérogénistes. Duclaux assistait à cette bataille de doctrines et participait aux expériences de Pasteur. Quelles fructueuses leçons de science expérimentale pour un débutant !

Les premiers travaux de Duclaux portent la marque des préoccupations d'alors ; il publie en 1862 une note *sur la germination des corpuscules organisés qui existent en suspension dans l'atmosphère*, puis en 1865, sa thèse pour le doctorat ès sciences, relative à *l'absorption de l'ammoniaque et à la production d'acides gras volatils dans la fermentation alcoolique*. Il y montre que la levure ne dégage pas de l'ammoniaque, comme une substance en putréfaction, mais qu'elle assimile au contraire l'azote du tartrate d'ammoniaque ajouté à la liqueur, pour en construire ses tissus. En même temps, la levure élimine des acides volatils, notamment de l'acide acétique.

Ces acides volatils que Duclaux rencontre au début de ses études sur les fermentations n'ont cessé de l'occuper dans la suite. Ils sont en très petite quantité, mais ils caractérisent les fermentations et entrent dans la composition des éthers odorants qui forment le bouquet. Duclaux indique un procédé simple et exact pour en faire l'évaluation qualitative et quantitative. Il consiste à séparer par distillations fractionnées des portions d'égal volume et à doser l'acide contenu dans chacune d'elles au moyen d'une liqueur alcaline. On inscrit à la suite les nombres lus sur la burette, ils vont en croissant ou en décroissant suivant une loi régulière caractéristique de l'acide. Comme il existe un rapport constant entre la quantité d'acide présente dans la liqueur primitive et la quantité qui a distillé à un moment quelconque, on peut conclure la quantité d'acide total de celle passée dans les premières parties rassemblées à la distillation fractionnée. Lorsqu'il y a un ou plusieurs acides mélangés, chacun se comporte comme s'il était seul et la marche des nombres recueillis révèle la composition du mélange. Duclaux est

revenu à diverses reprises sur cette question, il a dressé des courbes et des tables qui facilitent le dosage des acides volatils dans les mélanges ; elles sont utilisées chaque jour dans les laboratoires.

Cette méthode des distillations fractionnées est d'une grande sensibilité pour juger de la pureté des corps volatils. Il suffit d'en faire une solution à 1 ou 2 0/0, de la partager en deux parties égales et d'étudier chacune d'elles au moyen des distillations fractionnées. Si les nombres obtenus dans les deux cas sont les mêmes, le corps est certainement pur. Ce procédé montre à Duclaux que les acides formique et acétique du commerce sont très purs, que l'acide butyrique ne l'est jamais malgré que la densité et le point d'ébullition puissent le faire considérer comme pur. L'acide valérianique est presque toujours mélangé d'acide acétique, Duclaux indique le moyen de le préparer de façon qu'il subisse victorieusement l'épreuve de la distillation fractionnée telle qu'il l'a indiquée.

Duclaux a fait du compte-gouttes un instrument de dosage d'une commodité et d'une sensibilité admirables. En effet, il permet d'évaluer avec une précision extraordinaire la tension superficielle ou constante capillaire de divers liquides, il convient donc pour apprécier les plus faibles quantités d'alcools supérieurs mélangés dans le vin à l'alcool ordinaire. Le nombre de gouttes fourni par 5 c. c. de liquide est d'autant plus grand qu'il y a plus d'alcools étrangers. Dans les mélanges d'alcool et d'eau, les différences sont au maximum pour une richesse alcoolique voisine de 25°.

Les acides volatils qui font aussi varier la tension superficielle des liquides peuvent être appréciés par l'usage du compte-gouttes. Par ce procédé de dosage sûr et délicat, Duclaux étudie la production des acides volatils dans le vin. Le vin naturel renferme de l'acide acétique et un peu d'acide butyrique ; la proportion normale de ce dernier est de 1/12 à 1/15 du premier.

Il existe encore un peu d'acide valérianique, environ 10 milligrammes par litre. Les diverses maladies du vin sont caractérisées par un changement dans la composition du mélange d'acides volatils. Le vin poussé renferme de l'acide acétique et de l'acide propionique en parties à peu près égales, le

vin tourné de l'acide acétique et de l'acide butyrique en plus forte proportion que le vin normal.

Le compte-gouttes sert encore à Duclaux pour étudier la stabilité des émulsions, qui dépend surtout de l'égalité de tension superficielle des deux liquides émulsionnés.

Dans une série de mémoires parus dans les *Annales de physique et de chimie*, Duclaux applique aux phénomènes d'osmose, les lois des mouvements des liquides dans les espaces capillaires ; il conclut « que, si une substance poreuse quelconque, mouillée sur ses deux faces par des liquides différents, s'imbibe d'un liquide de préférence à l'autre, les phénomènes d'endosmose ou d'exosmose ne sont que des cas particuliers des phénomènes de diffusion. »

Duclaux rattache aux phénomènes d'adhésion moléculaire les modifications éprouvées par les solutions salines au contact de la terre, les phénomènes de teinture, les questions de la dissolution des gaz dans les liquides et celles de dissolution des liquides dans les liquides. Il est amené à s'occuper de la séparation des liquides mélangés et à construire des thermoscopes à maxima et minima qui ne craignent pas les chocs, ne subissent pas l'influence de la pression, sont pour ainsi dire indérangeables et constituent des instruments élégants aussi simples que précis.

L'étude des tensions superficielles a été un des sujets de prédilection de Duclaux, il a réuni ses idées sur le sujet en un corps de doctrine, dans un ouvrage intitulé *Traité élémentaire de la capillarité*, où il explique les faits connus en s'appuyant uniquement sur l'expérience « sans soulever aucune controverse théorique ».

Dans un travail sur les forces élastiques des vapeurs émises par un mélange de deux liquides, il envisage le cas du mélange des divers alcools avec l'eau, et il montre que la composition volumétrique du mélange de vapeurs qui s'échappe d'un liquide de composition donnée est indépendante de la nature des corps qui entrent dans le mélange et que la température d'ébullition du mélange est celle où la tension est maxima. Ces conclusions sont les mêmes pour les acides formique et acétique, elles expliquent les particularités observées dans la distillation de ces acides et attribuées à la formation de prétendus hydrates.

Duclaux a été conduit à la physique par la chimie. Son œuvre de physicien est tout à fait personnelle, elle se développe hors des sentiers battus et montre le souci de l'auteur de substituer des raisons simples aux explications compliquées.

*
* *

Lorsque Pasteur s'engagea dans l'étude des maladies des vers à soie, Duclaux fut son collaborateur en même temps que Gernez et Maillot. Il conduisait des éducations et examinait les graines au microscope dans le petit laboratoire de Pont-Gisquet. Mais, tout en prenant part aux recherches qui ont conduit au grainage cellulaire, Duclaux faisait des observations originales sur la respiration de la graine et sur l'influence du froid sur sa germination. Le refroidissement de l'hiver est nécessaire pour la bonne éclosion de la graine, un abaissement artificiel de la température produit le même effet. On peut provoquer l'éclosion de la graine au moment choisi si on l'a mise à la glacière quelques jours auparavant. L'industrie séricicole a tiré de ces observations de Duclaux le plus utile parti pour une bonne hibernation de la graine et pour sa conservation. De même, certaines graines végétales ne germent bien qu'après avoir été refroidies.

Un autre fait très curieux signalé aussi par Duclaux, c'est qu'un court passage d'une graine de ver à soie dans l'acide sulfurique concentré provoque son éclosion. Il est bon de rappeler cette expérience au moment où les biologistes s'occupent avec tant d'ardeur des phénomènes d'évolution d'œufs non fécondés, sous l'influence d'actions physiques ou chimiques.

*
* *

Dès qu'il le peut, Duclaux revient à l'étude des microbes par laquelle il a débuté chez Pasteur. Les microbes sont présents dans le tube intestinal de l'homme et des animaux; il y en a dans l'estomac, dans l'intestin grêle, et ils sont innombrables dans le gros intestin. Ces organismes microscopiques, agents très actifs de transformation des matières organiques, sécrètent des diastases changeant l'amidon en sucre, peptonisant l'albumine. Il faut donc tenir compte de leur présence dans la digestion des aliments. Jusqu'à Duclaux, on ne l'avait pas fait ;

dans toutes les expériences de digestion naturelle et artificielle, ils ont une part qui n'avait pas été déterminée. Est-elle secondaire, est-elle essentielle? On n'en savait rien.

Duclaux a résolu la question en faisant des digestions artificielles avec les divers suc digestifs privés de microbes. On arrive facilement à stériliser le suc gastrique par filtration à travers une paroi de porcelaine dégourdie, mais le suc pancréatiques visqueux ne peut être purifié par ce moyen. Duclaux tourne la difficulté, en prélevant avec pureté, chez un animal en pleine digestion, de petits fragments de pancréas qui sont mis, dans des tubes flambés, au contact des substances à digérer.

Les résultats obtenus sont d'une grande netteté. Les microbes ne jouent aucun rôle dans la digestion gastrique et pancréatique. Paralysés par l'acide de l'estomac, ils ne pullulent que dans l'intestin, et après la digestion physiologique opérée par les suc glandulaires, commence une digestion microbienne qui s'attaque aux celluloses et dégage des gaz intestinaux.

Ces travaux ont été confirmés depuis fort élégamment, par les expériences qui consistent à élever des poulets sortant de l'œuf, dans un milieu privé de microbes, avec une nourriture stérilisée.

Les mêmes idées ont inspiré les recherches de Duclaux sur la germination dans un sol riche en matières organiques, mais exempt de microbes. Les matières organiques hydrocarbonées et azotées, introduites dans le sol, sont transformées par les microbes en substances plus simples (eau, acide carbonique, ammoniaque, acide nitrique) utilisées par les végétaux. Cette transformation est-elle indispensable? Des plantes auxquelles on offrirait du sucre ou des matières albuminoïdes ne seraient-elles pas capables de les assimiler directement? Il est d'autant plus naturel de se poser cette question que, dans une graine en germination, par exemple, il existe des diastases convertissant l'amidon en sucre. Duclaux juge la question en faisant germer des pois et des haricots sur un sol sans microbes, humecté de lait, d'empois d'amidon, de solution de sucre, par comparaison avec des pois et des haricots placés dans le même sol arrosé d'eau pure. La germination des graines et la croissance des plantules sont identiques dans les deux cas. Le végétal n'utilise pas la nourriture mise à sa disposition, l'amidon n'est pas sac-

charifié, le sucre n'est pas interverti, la caséine n'est pas consommée. On les retrouve tels qu'on les a mis. Les diastases contenues dans les cellules de la plante n'en sortent pas et ne peuvent agir au dehors. Les microbes sont donc indispensables pour préparer la nourriture des végétaux, sans eux la terre serait infertile.

Ces questions si importantes du rôle des microbes dans la digestion ont été étudiées par Duclaux, pour ainsi dire sans effort, tant les méthodes qu'il a employées sont simples et faciles. On leur doit tous les progrès accomplis sur ce sujet.

Une remarque faite au cours des recherches précédentes a conduit Duclaux à étudier l'action de la lumière solaire sur les substances hydrocarbonées. Dans des tubes exposés à la lumière et contenant des solutions de sucre, celui-ci est modifié en l'absence de tout organisme microscopique. Sous l'action de l'air et des radiations solaires, il est transformé en groupements plus stables. L'air peut ne pas intervenir dans la réaction et il se fait alors une sorte de combustion intérieure. En milieu alcalin, le sucre fournit de l'alcool et de l'acide carbonique comme sous l'action du ferment alcoolique. Duclaux désirait beaucoup reprendre l'étude de ces réactions dues à la lumière du soleil, il pensait que des traces de corps minéraux empruntés au verre des tubes exerçaient une influence sur leur marche.

*
* *

Aucun liquide organique n'est plus exposé que le lait à l'invasion des microbes, toutes les altérations qu'il subit sont causées par eux. Le cultivateur qui traite ses vaches et prépare le beurre et le fromage, le commerçant qui transporte et vend le lait, le nombre immense de ceux qui le consomment ont affaire à ces microbes. Et cependant, on avait fort négligé ces ferments qui sont partout, qui commandent tout. Duclaux les met à leur véritable place, c'est-à-dire à la première, car il est convaincu que le progrès de l'industrie laitière dépend de nos connaissances à leur sujet. Il leur a consacré une bonne part de son temps; ce qu'il apprenait sur eux a été publié au fur et à mesure, puis résumé en deux livres : *Le Lait* et *Les Principes de laiterie*.

Tout d'abord, Duclaux s'attache à la constitution et à la

composition du lait. A la station laitière du Fau, à l'Institut agronomique, il exécute un grand nombre d'analyses et perfectionne les méthodes de dosage. Ses études sur la tension superficielle trouvent leur application à propos de l'état des globules de beurre dans le lait. Ils ne sont point, comme on l'a cru, entourés d'une membrane, ils sont à l'état d'émulsion et la stabilité de celle-ci est due à ce que la tension superficielle du sérum diffère très peu de celle du corps gras. La façon dont le barattage amène la soudure des globules de beurre est expliquée. Puis Duclaux s'occupe de la composition du beurre, de sa teneur en acides volatils et du rancissement.

On admettait que le lait renferme, en dehors de la caséine, des matières albuminoïdes telles que l'albumine, la lactoprotéine, l'albuminose, etc... Pour Duclaux, tous ces noms ne correspondent nullement à des espèces chimiques, ils s'appliquent aux agrégations moléculaires d'une même substance, déterminées par l'action des réactifs employés. En réalité, il n'y a dans le lait que de la caséine sous deux états, celui de dissolution parfaite passant à travers les cloisons poreuses et celui de suspension. C'est pour cela qu'avec le temps, la caséine se dépose en partie. Il en est de même du phosphate de chaux qui est dissous pour une part et suspendu pour l'autre; lui aussi se rassemble peu à peu au fond des vases, est entraîné par les précipités, ce qui a fait croire qu'il intervenait dans la coagulation du lait par la présure.

Ces données établies, Duclaux s'occupe de l'action de la présure sur le lait; pour éliminer toute action microbienne, il filtre la présure sur porcelaine et il examine en détail l'influence de la température, des divers sels, de petites quantités d'acide et de base. Il nous donne un véritable guide pour l'étude des diastases.

La présure n'est pas la seule diastase de la caséine, il en existe une autre, la caséase, qui redissout le coagulum formé par la première. Toutes deux sont utiles pour la digestion du lait; la présure se trouve dans le suc gastrique des animaux à la mamelle, la caséase dans le suc pancréatique.

Présure et caséase sont aussi préparées par les microbes; par leur intermédiaire, ils agissent sur la caséine et jouent un rôle prépondérant dans l'industrie fromagère. Dès la mise en présure, pendant que la caséine s'égoutte dans la forme, les

microbes se mettent à l'œuvre. Les premiers qui se développent dans un fromage de Brie, par exemple, sont les ferments du lactose qui transforment le peu de sucre restant en acide lactique, puis des moisissures particulières consomment l'acide lactique. En faisant disparaître l'acidité, elles permettent aux ferments de la caséine de s'installer sur la pâte. Ce sont eux qui mûrissent le fromage, donnent à la pâte l'aspect transparent, grâce à leur caséase qui pénètre peu à peu la masse. En même temps, les produits sapides, élaborés aussi par les microbes, constituent le bouquet particulier du fromage. Duclaux isole un à un tous ces organismes pour déterminer leur action sur le sucre, la caséine et le beurre. Le fromage est donc le résultat de cette collaboration microbienne. Chacun des ouvriers microscopiques doit travailler à son tour et s'arrêter au bon moment. Un semblable atelier est difficile à conduire et il a fallu la pratique des siècles pour obtenir des produits dont le goût et l'aspect soient toujours les mêmes. Les travaux de Duclaux inaugurent l'ère scientifique de la laiterie. Dans l'avenir, les incertitudes de la fabrication disparaîtront, et les pertes actuellement si considérables, causées par les fermentations anormales, véritables maladies du fromage, pourront être prévenues.

L'analyse chimique met en évidence les modifications de la pâte correspondant aux diverses étapes de la maturation.

Duclaux étudie tour à tour les divers types de fromages, ceux à pâte molle et ceux à pâte dure, notamment le fromage du Cantal qui est une des richesses de son pays natal.

Ces diastases que Duclaux vient de voir à l'œuvre dans la fabrication des fromages, jouent un rôle prépondérant dans les phénomènes de la vie. Aussi deviennent-elles pour lui un sujet favori d'études. Il y revient à maintes reprises, il montre comment un même organisme microscopique sécrète des diastases différentes suivant la nourriture qui lui est offerte. Il classe les diastases suivant les réactions qu'elles déterminent et propose la terminologie adoptée aujourd'hui. Il essaye de déterminer les lois d'action de la présure et de la caséase, il les figure dans des courbes et les met en formules. Il est un des initiateurs du mouvement actuel qui a déjà fourni de si intéressants résultats.

* *

Les mémoires originaux analysés dans les lignes précédentes

ne constituent pas toute l'œuvre de Duclaux. Il a écrit : *Ferments et Maladies* refondu et édité ensuite sous le titre de *Microbes et Maladies*. Ces deux livres résument les travaux de l'Ecole de Pasteur, ils sont pour ainsi dire l'« Evangile » de la nouvelle doctrine. Leur influence a été considérable, ils ont amené à croire aux microbes nombre de médecins qui les niaient jusqu'alors.

A son livre de *Microbiologie* publié en 1883, succède, en 1898, un ouvrage beaucoup plus étendu : le *Traité de microbiologie*. Quatre volumes ont paru sur les sept projetés. Il fallait l'érudition et l'activité de Duclaux pour mener à bien cet énorme travail. Ce n'est pas seulement un traité ordinaire où sont présentés avec clarté et à leur place les travaux publiés sur le sujet, c'est aussi un livre original parce que, sur beaucoup de points, les idées énoncées appartiennent à Duclaux et sont appuyées sur ses propres recherches. Même quand il expose ce qui a été fait par d'autres, il fait œuvre personnelle. Du rapprochement et de la comparaison de plusieurs mémoires qui n'éclaircissent point le sujet, il sait tirer la conclusion véritable méconnue par les auteurs. Le second volume consacré aux Diastases et le troisième à la Fermentation alcoolique sont riches en aperçus originaux. Le cinquième volume, sur les Fermentations des matières azotées était écrit en partie lorsque Duclaux a succombé. Très au courant des recherches récentes sur les matières albuminoïdes, il s'était fait de leur constitution une idée simple qu'il croyait d'accord avec tous les faits. Ce *Traité* inachevé donne la plus haute idée de celui qui en a dressé le plan et qui n'a pas craint d'entreprendre à lui seul cette encyclopédie microbiologique.

Un des livres où se manifestent le mieux les qualités d'esprit de Duclaux est le *Cours de physique et de météorologie* professé à l'Institut agronomique. Il débute par un résumé des principes de la physique démontrée par des expériences simples. L'auteur s'attache à présenter des idées générales plutôt qu'à décrire des appareils. L'idée directrice de la partie météorologique est que les mouvements de l'air, depuis les plus grands jusqu'aux plus petits, sont dus à l'inégal échauffement de régions voisines. De ce principe le reste découle avec facilité. Ce livre a réconcilié bien des gens avec la météorologie, tant il est clair et attrayant.

Pasteur, histoire d'un esprit, a paru un an après la mort de Pasteur, en 1896. Cet ouvrage est digne de celui qui l'a inspiré. Il ne pouvait être écrit que par Duclaux qui avait suivi tous les travaux du maître en disciple dévoué et en penseur indépendant. Les découvertes pastoriennes s'y déroulent dans leur développement harmonieux. Mais on y voit aussi le savant aux prises avec les difficultés, évitant les obstacles et faisant tourner au profit de la vérité même ses erreurs momentanées. Après avoir lu cette analyse de son œuvre, on comprend mieux Pasteur et on le trouve encore plus grand.

L'Hygiène sociale est le dernier livre écrit par Duclaux. Il mérite d'être médité et par ceux qui gouvernent et par ceux qui sont gouvernés. La vérité y est dite sans complaisance avec une conviction persuasive. Duclaux y montre les vrais remèdes à opposer aux maladies qui minent notre civilisation. Il fait voir comment les découvertes de laboratoire deviennent des faits sociaux qui s'imposent aux gouvernants et aux législateurs. Avec une entière liberté de pensée, il fait le départ de ce que l'État peut déjà exiger et de ce qu'il est impuissant à imposer à nos mœurs. Ce dernier écrit de Duclaux est un chef-d'œuvre de bon sens dont ferait bien de s'inspirer un jour quelque législateur avisé.

Il faudrait encore de longues pages pour citer toutes les productions de ce grand laborieux, articles de vulgarisation, revues scientifiques. Toutes se distinguent par une pensée indépendante, présentée d'une façon inattendue, dans une langue vivante, imagée, sincère, qui est celle d'un grand écrivain. Aussi, rien de ce qu'il a écrit ne nous laisse indifférents.

Liste des publications scientifiques de E. Duclaux

FERMENTATIONS

- Note sur la germination des corpuscules qui existent en suspension dans l'atmosphère. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1863, LVI, p. 1225.
- Sur la fermentation alcoolique. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1864, LVIII, p. 1114.
- Observation en réponse à une note de M. Millon relative à la fermentation alcoolique. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1864, LIX, p. 450.
- Etudes relatives à l'absorption de l'ammoniaque et à la production d'acides gras volatils pendant la fermentation alcoolique. (Thèse pour le doctorat ès-sciences physiques.) *Ann. scient. de l'Ec. N. sup^{re}*, 1^{re} série, t. II, 1865, p. 249.
- Fermentation alcoolique du lactose. *Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 573.
- Fermentations et combustions solaires. *Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 751.

ÉTUDES SUR LES VERS À SOIE

- De l'influence du froid de l'hiver sur le développement de l'embryon du ver à soie et sur l'éclosion de la graine. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1869, LXIX, p. 1021.
- Recherches sur la respiration et l'asphyxie de la graine de vers à soie. *Ann. scient. de l'Ec. N. sup^{re}*, 1869, 1^{re} série, t. VI, p. 85, et *C. R. Ac. d. Sc.*, 1871, LXXIII, p. 826.
- Sur un moyen de produire à volonté l'éclosion de la graine de vers à soie. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1871, LXXIII, p. 917.
- Etudes physiologiques sur la graine de vers à soie. *Ann. de phys. et chim.*, 1871, 4^e série, t. XXIV, p. 290.
- De l'action physiologique qu'exercent sur les graines de vers à soie des températures inférieures à zéro. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1876, LXXXIII, p. 1049.
- Sur l'évolution des corpuscules dans l'œuf du ver à soie. *Ann. Inst. Past.*, 1895, VII, p. 885.

ÉTUDES SUR LE PHYLLOXERA, AGRICULTURE, ETC.

- De l'influence de l'hiver sur les graines végétales. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1872, LXXIV, p. 802.
- Notes relatives aux résultats obtenus dans ses études sur les ravages du phylloxera. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1872, LXXV, p. 834.
- Sur la maladie de la vigne dans le sud-est de la France, *C. R. Ac. d. Sc.*, 1872, LXXV, p. 722 et 1686.
- Observations relatives au phylloxera vastatrix. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1872, LXXVI, p. 1451.

- Sur un moyen d'arrêter les progrès de la maladie de la vigne. *Soc d'agr. hist. naturelle et actes utiles de Lyon*, 1874.
- Pays vignobles atteints par le phylloxera en 1874. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1875, LXXX, p. 1085.
- Traitement, par les sulfocarbonates, de la tache qui avait signalé l'apparition du phylloxera à Villié-Margon. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1875, LXXXI, p. 829.
- Pays vignobles atteints par le phylloxera, 1877. *C. R. A. d. Sc.*, 1877, LXXXV, p. 1145.
- Progrès du phylloxera dans le sud-ouest de la France. *C. R. A. d. Sc.*, 1877, LXXXV, p. 1206.
- Sur la germination dans un sol riche en matières organiques, mais exempt de microbes. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1885, C, p. 66.
- Observations relatives à une note de MM. Th. Schlœsing et Em. Laurent sur la fixation de l'azote libre par les plantes. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1892, CXV, p. 735.
- Les bactéries parasitaires des céréales. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1888, II, p. 621.
- Le rôle agricole des microbes. *Revue scientifique*, 1893, t. LII p. 834.
- Sur la fixation de l'azote atmosphérique. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1894, VIII, p. 728.

BACTÉRIOLOGIE

- Influence de la lumière du soleil sur la vitalité des germes des microbes. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1885, C, p. 119.
- Sur la vitalité des germes des microbes. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1885, C, p. 184.
- Influence de la lumière du soleil sur la vitalité des micrococci. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1885, CI, p. 395.
- Action de la lumière sur les microbes. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 88.
- Les microbes du sol. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 246.
- Contribution à l'étude des besoins des bactéries en oxygène. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 311.
- Etudes et recherches sur le barbone des buffles. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 400.
- La scarlatine de lait à Londres, 1885. Observations sur une certaine maladie se produisant parmi les vaches au moment où leur lait disséminait la scarlatine, etc. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 453.
- Sur les bactéries des eaux sulfureuses. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 548.
- Sur l'absorption par inhalation des germes morbides. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1888, II, p. 32.
- Mémoires sur le choléra Hog (choléra des poules). *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1888, II, p. 387.
- Sur les théories de l'immunité. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1888, II, p. 494.
- Sur le rôle des microbes dans la végétation. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1888, III, p. 82.

- Les microbes des eaux. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1888, III, p. 559.
 L'action de la lumière sur les microbes. *Revue scientifique*, 1887, t. XXXIX, p. 161.
 Microbes, poisons et maladies. *Revue scientifique*, 1888, t. XLI, p. 65.
 L'Ecole de Munich et l'Ecole de Berlin. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890 IV, p. 299.
 Les Instituts bactériologiques en France et à l'étranger. *Revue scientifique*, 1891, t. XLVIII, p. 481.
 Etude d'un microbe rencontré sur un malade atteint du clou de Biskra. *Bull. Ac. de Méd.*, 1884, 2^e série, t. XIII, p. 743.

CHIMIE

- Sur un hydrate de sulfure de carbone. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1867, LXIV, p. 1039.
 Sur l'iodure d'amidon. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1872, LXXIV, p. 533.
 Sur les phénomènes présentés par l'iodure d'amidon. *Ann. d' phys. et chim.*, 1872, 4^e série, t. XXV, p. 264.
 Epaiillage chimique de la laine. *Bull. Soc. chim.*, t. XXI, p. 337.
 Sur un nouveau moyen de vérifier la pureté des corps volatils. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1885, CI, p. 1501.
 Sur les transformations chimiques provoquées par la lumière solaire. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1886, CIII, p. 881.
 Sur la préparation de l'acide valérianique pur. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1887, CV, p. 171.
 Sur la migration des matières grasses. *Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 347.
 Recherches des alcools de degré supérieur. *Ann. Inst. Past.*, 1888, II, p. 489.
 Nouveau moyen d'éprouver la pureté des corps volatils. *Ann. de phy. et de chim.*, 1886, 6^e série, t. VIII, p. 542.
 Sur les sucres à cinq atomes de carbone ou pentoses. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 423.
 De la réaction de l'iode sur l'amidon. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1894, VIII, p. 863.

CHIMIE BIOLOGIQUE, ÉTUDES SUR LES VINS, ETC.

- Sur un nouveau procédé pour l'étude et le dosage de l'alcool des vins. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1874, LXXVIII, p. 951.
 Sur la matière colorante du vin. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1874, LXXVIII, p. 1159.
 Sur les acides volatils du vin. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1874, LXXVIII, p. 1160.
 Recherches sur les vins, 1^{er} et 2^e mémoires. *Ann. phys. et chim.*, 1874, 5^e série, II, p. 233 et 289.
 Recherches sur les vins. 3^e mémoire. *Ann. phys. et chim.*, 5^e série, III, p. 108.
 Sur les ferments des matières albuminoïdes. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1880, XCI, p. 731.
 Sur la digestion gastrique. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1882, XCIV, p. 736.
 Sur la digestion pancréatique. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1882, XCIV, p. 808.
 Sur la digestion intestinale. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1882, XCIV, p. 877.

- Sur la digestion des matières grasses et cellulosiques. *C. R. Ac. d. Sc.* 1882, XCIV, p. 976.
- Rapport sur le déplâtrage des vins. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1892, CXV, p. 152.
- Sur une des réactions de la spermine. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1892, CXV, p. 155.
- Sur une réaction donnée comme particulière à la spermine. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1892, CXV, p. 735.
- De la durée de la vie chez les germes des microbes. *Ann. phys. et chim.*, 1885, 6^e série, t. VIII, p. 542.
- MICROBIOLOGIE. (*Encyclopédie chimique*, M. Frémy) 4 vol. in-8°, 1883.
- Action de la lumière solaire sur les substances hydrocarbonées. *Ann. de l'Inst. nat. agron.*, 1887.
- Sur les diastases digestives : sucrase. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1888, II, p. 613.
- Sur la digestion des matières grasses. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 126.
- Sur le dosage des acides libres du suc gastrique. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 183.
- Sur les actions chimiques et microbiennes qui se produisent dans le sol. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, IV, p. 232.
- Sur la sécrétion des diastases dans l'orge. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, IV, p. 607.
- Action de l'électricité sur les microbes. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, IV, p. 677.
- L'alcool est-il un aliment? *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, IV, p. 745.
- Action de la lumière sur les microbes. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, IV, p. 792.
- Sur l'état des acides pendant la digestion gastrique chez les nourrissons. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1891, V, p. 267.
- Sur la digestion dans l'intestin grêle. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1891, V, p. 406.
- Les matières albuminoïdes. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1891, V, p. 712.
- Sur la constitution des matières albuminoïdes. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1891, V, p. 783.
- Le lait considéré comme matière alimentaire. *Revue scientif.*, 1890, t. XLV, p. 578.
- Phénomènes généraux de la vie des microbes. *Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 145.
- Conservation des microbes. *Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 78.
- Nutrition intracellulaire, 1^{er} mémoire. *Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 97.
- Conservation des levures. *Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 375.
- Nutrition intracellulaire, 2^e mémoire. *Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 413.
- Formation des spores dans la levure. *Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 556.
- Sur la différenciation des matières albuminoïdes. *Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 369.
- Sur la coagulation du sulfate de quinine. *Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 657.
- De l'influence du mouvement des liquides sur la multiplication des microbes. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 55.

- Sur la différenciation des matières albuminoïdes, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 199.
- Nucléo-albumines, globulines et albumines, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 274.
- Études de chimie biologique, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 381.
- Sur la coagulation, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1892, t. VI, p. 584.
- Sur une fermentation pure de mannite et de glycérine. Fermentations produites par le pneumocoque de Friedlander. Fermentation pure de mannite et de dulcité. Décomposition de la mannite et du dextrose par le *bacillus ethaceticus*. Fermentation de l'arabinose par le *bacillus ethaceticus*, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 651.
- Sur les actions coagulantes, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1892, VI, p. 834.
- Sur le mécanisme de la coagulation, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 57.
- Sur l'étude chimique des aliments, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 676.
- Sur l'étude chimique des aliments, les celluloses, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 786.
- La distribution de la matière organique et des microbes dans le sol, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 823.
- Sur la saccharification de l'amidon, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 56.
- Les théories de la saccharification, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 120.
- Amidons, dextrine et maltose, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 214.
- Les laits stérilisés, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 281.
- La digestibilité du lait stérilisé, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 352.
- Sur l'origine des levures alcooliques, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 776.
- Sur l'élection des aliments organiques, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 854.
- Nutrition sans bactéries, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 896.
- Sur les odeurs de putréfaction, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, X, p. 59.
- Le pouvoir ferment et l'activité d'une levure, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, X, p. 119 et 177.
- Digestion sans microbes, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, X, p. 411.
- Sur la structure des bactéries, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, X, p. 729.
- Sur l'action des diastases, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1897, XI, p. 793.
- Que savons-nous de l'origine des saccharomyces, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1898, XII, p. 156.
- Sur les proenzymes, *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1898, XII, p. 407.
- Sociologie et biologie, *Revue scientifique*, 1899, t. LXIV, p. 833.

- TRAITÉ DE MICROBIOLOGIE, 1891 à 1901, 4 forts vol. in-8°.
 Sur le rôle protecteur des microbes. *Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 305.
 Sur le vieillissement des vins. *Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 537.
 Sur la coagulation de l'albumine. *Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, 644.
 Dosage des acides volatils. *Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 265.
 Dosage des alcools. *Ann. Inst. Past.*, 1893, IX, p. 575.
 Études sur l'action solaire. *Ann. Inst. Past.*, 1896, X, p. 129.
 Lois générales de l'action des diastases. *Ann. Inst. Past.*, 1898, XII, p. 96.

ÉTUDES SUR LE LAIT

- Maturation et maladies du fromage du Cantal. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1877, LXXXV, p. 1171.
 Fabrication, maturation et maladies du fromage du Cantal. Rapport à M. le ministre de l'Agriculture et du Commerce sur les travaux exécutés à la station laitière du Fau (Cantal) pendant l'année 1879. *Ann. Inst. nation. agron.*, 1880.
 Deuxième rapport. *Ann. Inst., nation. agron.*, 1881.
 Premier mémoire sur le lait. *Ann. Inst. nation. agron.* 1880.
 Deuxième mémoire sur le lait. *Ann. Inst. nation. agron.*, 1884.
 Troisième mémoire sur le lait. *Ann. Inst. nation. agron.*, 1886.
 Sur les matières albuminoïdes du lait. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1884, XCVIII, p. 373.
 Sur la constitution du lait. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1884, XCVIII, p. 438.
 Action de la présure sur le lait. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1884, XCVIII, p. 526.
 Études sur le beurre. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1884, CH, p. 1020.
 Sur la rancissure du beurre, *C. R. Ac. d. Sc.*, 1884, CH, p. 1077.
 Sur la composition des beurres de diverses provenances. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1887, CIV, p. 1727.
 Sur les procédés de conservation du lait. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 30.
 La chimie et l'industrie du lait, 1889. *Conférence faite à l'Exposition universelle internationale.*
 Le lait et sa composition chimique. *Revue scientif.*, 1885, XXXV, p. 685.
 PRINCIPES DE LAITERIE, 1892, 1 vol. in-12.
 LE LAIT, ÉTUDES CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES, 1894, 1 vol. in-12.
 Sur les phosphates du lait. *Ann. Inst. Past.*, 1893, VII, p. 2.
 Sur le lait congelé. *Ann. Inst. Past.*, 1896, X, p. 393.

MÉDECINE ET HYGIÈNE

- Carcinome et sarcome. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1882, II, p. 84.
 FERMENTS ET MALADIES, 1882, 1 vol. in-8°.
 LE MICROBE ET LA MALADIE, 1886, 1 vol. in-8°.
 Action du soleil. *Revue d'hyg. et de pol. sanit.*, 1885, p. 237.
 Alcools toxiques. *Revue d'hyg. et de pol. sanit.*, 1889, p. 88.
 Le lait. *Revue d'hyg. et de pol. sanit.*, 1889, p. 357.
 Sur la théorie des oscillations des eaux profondes. Rôle de la capillarité du sol dans le transport des bactéries, etc. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 134.

- Sur la valeur de l'iodoforme comme antiseptique. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1887, I, p. 597.
- Sur la désinfection des wagons ayant servi au transport des animaux. *Revue crit. Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 198.
- Recherches sur la nourriture des nourrissons malades au moyen de lait stérilisé. *Revue crit. Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 570.
- Influence de la ventilation sur les microbes en suspension dans l'air. *Revue crit. Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 616.
- Sur les antiseptiques. *Revue crit. Ann. Inst. Past.*, 1889, III, p. 671.
- Sur la contamination des puits. *C. R. Ac. d. S.*, 1892, CXXV, p. 913.
- Sur l'action antiseptique de l'acide formique. *Ann. Inst. Past.*, 1892, p. 593.
- Le filtrage des eaux. *Revue critique, Ann. Inst. Past.*, 1890, p. 41.
- Action de l'eau sur les bactéries pathogènes. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, p. 109.
- Sur les relations du sol et de l'eau qui le traverse. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, p. 172.
- Sur la vitalité de divers microbes dans le lait. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1890, p. 183.
- Sur la stérilisation du lait. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1891, p. 50.
- Le filtrage des eaux de fleuve. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1891, p. 257.
- Sur quelques antiseptiques de la série aromatique. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1891, p. 617.
- La purification spontanée des eaux de fleuve. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1894, p. 117.
- La purification spontanée des eaux de fleuve. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1894, p. 178.
- Moyens d'examen des eaux potables. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1894, p. 514.
- Sur l'alimentation des nouveau-nés. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1894, p. 811.
- La falsification des substances alimentaires. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, p. 244.
- La falsification des substances alimentaires. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, p. 309.
- La question de l'alcool. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, p. 358.
- Réponse à M. Arm. Gautier à la suite d'une lettre de ce dernier, relative à la revue critique récemment publiée dans *Ann. Inst. Past.*, 1896, p. 244. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1896, p. 408.
- Rapport présenté au nom de la sous-commission de l'hygiène à la commission extra-parlementaire du monopole de l'alcool. *Ann. Inst. Past.*, 1898, p. 73.
- Rapport général sur les enquêtes concernant les eaux de source distribuées à Paris. *Ann. Inst. Past.*, 1900, 816.
- L'alcool est-il un aliment? *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1902, p. 857.
- Ce que c'est qu'un aliment. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1903, p. 307.
- L'alcool et ses droits naturels. *Revue critique. Ann. Inst. Past.*, 1903, p. 770.
- Antiseptiques. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1890, p. 74.

- Lait stérilisé. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1891, p. 570.
 Acide formique antiseptique. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1893, p. 156.
 Lutte contre la diphtérie. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1895, p. 65.
 Dosage des alcools. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1895, p. 1033.
 Alcool et alcoolisme. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1896, p. 727.
 Lait congelé. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1897, p. 266.
 Contamination des puits. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1898, p. 64.
 Cours d'hygiène sociale. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1901, p. 93.
 Eaux de sources. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1901, p. 298.
 Eaux de sources. *Revue d'hygiène et de pol. sanit.*, 1901, p. 334.
 L'HYGIÈNE SOCIALE, 1902, 1 vol. in-8°.
 Études d'hydrographie souterraine. *Ann. Inst. Past.*, 1903, p. 523, 640, 857.
 id. 1904, p. 121, 197, 269.

PHYSIQUE

- Sur la formation des gouttes liquides. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1870, LXX, p. 933.
 Sur les lois des mouvements d'écoulement des liquides dans les espaces capillaires. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1872, LXXIV, p. 368.
 Sur la séparation des liquides mélangés et sur de nouveaux thermomètres à maxima et à minima. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1875, LXXXI, p. 815.
 Sur la tension superficielle des solutions aqueuses d'alcools et d'acides gras. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1877, LXXXV, p. 1068.
 Sur les forces élastiques des vapeurs émises par un mélange de deux liquides. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1878, LXXXVI, p. 592.
 Sur les phénomènes qui accompagnent la couronne solaire. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1884, XCIX, p. 714.
 Études actinométriques. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1886, CIII, p. 1010.
 Sur les actions comparées de la chaleur et de la lumière solaire. *C. R. Ac. d. Sc.*, 1887, CIV, p. 294.
 Sur la tension superficielle des liquides. *Ann. phys. et chim.*, 1870, 4^e série, t. XXI, p. 378.
 Recherches sur les lois des mouvements des liquides dans les espaces capillaires. *Ann. phys. et chim.*, 1872, 4^e série, t. XXV, p. 433.
 Sur la séparation des liquides mélangés. *Ann. Phys. et chim.*, 1876, 5^e série, t. VII, p. 264.
 Sur la tension superficielle dans la série des alcools et des acides gras. *Ann. phys. et chim.*, 1878, 5^e série, t. XIII, p. 76.
 Sur les forces élastiques des vapeurs émises par les mélanges de deux liquides. *Ann. phys. et chim.*, 1878, 5^e série, t. XIV, p. 305.
 De l'influence de la tension superficielle sur les mesures aérométriques. *Journal de physique*, 1872, p. 197.
 Théorie élémentaire de la capillarité. *Journal de physique*, 1872, p. 350.
 Équilibre des mélanges liquides. Nouveaux thermomètres à minima et à maxima. *Journal de physique*, 1876, p. 13.
 COURS DE PHYSIQUE ET DE MÉTÉOROLOGIE, 1891, 1 vol. in-8°.

DIVERS

Louis Pasteur. *Ann. Inst. Past.*, 1895, p. 745.

Le laboratoire de M. Pasteur et l'École normale. *Revue scientifique*, 1895, t. LV, p. 449.

L'œuvre de Pasteur. *Rev. scient.*, 1895, t. LVI, p. 641.

PASTEUR, HISTOIRE D'UN ESPRIT 1896, 1 vol. in-8°.

Discours prononcé aux funérailles de M. J. Bertrand, au nom de l'Institut Pasteur. *C. R. Ac. d. Sc.* 1900, CXXX, p. 972.

Préface du *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1903.

L'enseignement des mathématiques. *Revue scientifique*, 1899, t. LXIII, p. 353.

Discours prononcé à l'inauguration de l'Institut Pasteur de Lille, 1899.

Le Sérum antistreptococcique et son mode d'action

PAR LE D^r BESREDKA

(Laboratoires de MM. Metchnikoff et Roux.)

Le sérum antistreptococcique, quoique entré depuis déjà une dizaine d'années dans la thérapeutique humaine, est loin d'y avoir acquis le droit de cité. Tout au contraire, depuis sa découverte, jamais il n'a soulevé tant de discussions qu'en ces temps derniers. Le fait est que, outre les imperfections que ce sérum partage avec la majorité des sérums antimicrobiens, il a un point faible, qui lui appartient en propre et qui dérive de l'incertitude qui plane de tout temps sur la nature même du streptocoque.

Marmorek, qui s'est occupé beaucoup de la sérothérapie antistreptococcique, soutenait, même jusqu'à ces temps derniers, que tous les streptocoques, d'où qu'ils viennent, appartiennent à une seule et même espèce.

Cette opinion, sans être unanime, a été celle que l'on enseignait généralement : dans les traités aussi bien que dans les cours de bactériologie, on parlait couramment *du* streptocoque.

Aujourd'hui, c'est l'opinion contraire qui semble être en faveur ; il paraîtrait qu'il n'y a pas deux streptocoques qui se ressemblent ; non seulement au cours de maladies différentes, mais dans une seule maladie, cliniquement bien déterminée, telle que la scarlatine, les streptocoques seraient différents les uns des autres.

On conçoit aisément qu'une divergence aussi profonde d'opinions n'est pas sans avoir eu une répercussion sur la sérothérapie antistreptococcique, et voici pourquoi celle-ci a mis tant d'années à se frayer un chemin dans la clinique.

Il n'est pas douteux que nos connaissances sur la biologie du streptocoque sont encore imparfaites ; il n'en est pas moins certain que la tendance actuelle de voir partout et toujours des streptocoques variés est aussi peu fondée que l'opinion des

unicistes hypnotisés par la ressemblance morphologique de cocci en chaînettes.

Il en est, d'après nous, des streptocoques comme des vibrions et des spirilles. Le streptocoque n'est qu'une expression de la forme de microbes dont il existe plusieurs variétés, aussi distinctes peut-être que le sont le vibron cholérique et le *vibrio Metchnikovi*, par exemple.

Le problème qui se pose aujourd'hui est de trouver les moyens permettant d'individualiser les streptocoques; c'est là, pensons-nous, l'avenir de la sérothérapie antistreptococcique, et tant que ce problème ne sera pas résolu, on sera réduit à des tâtonnements et à de l'empirisme plus ou moins réussi.

Nous reviendrons sur ce sujet à la fin de cet article.

*
* *

La question du milieu a été, pour le streptocoque, toujours une de celles qui préoccupaient le plus les bactériologistes. Marmorek, qui essaya un grand nombre de milieux, s'arrêta finalement au bouillon-ascite. Plus près de nous, Aronson, auquel nous devons le sérum le plus actif jusqu'à présent connu, se sert de bouillon glucosé, milieu excellent, mais fort capricieux, nous disait-il. D'autres bactériologistes ont employé des milieux plus ou moins compliqués, mais toujours à base de bouillon.

Guidé par certaines considérations sur lesquelles nous reviendrons ultérieurement, nous avons résolu de déroger à cet usage et d'opérer, autant que possible, sur des streptocoques cultivés en milieu solide. Or, sur gélose, le streptocoque forme des colonies très petites et souvent, comme c'est le cas pour le microbe de Marmorek, c'est à peine si l'on distingue une trace de culture. Il a fallu cependant, pour immuniser les chevaux, avoir de grandes quantités de corps microbiens.

Pour cela, nous avons eu recours au procédé suivant.

Tous les échantillons de streptocoques — et nous en possédons plus de 40 — sont ensemencés et conservés dans un mélange à parties égales de bouillon Martin et de sérum chauffé (56° — 1/2h.) de cheval; dans ce milieu les streptocoques restent longtemps vivants et conservent très bien leur virulence. Après s'être ainsi habitués à vivre en présence du sérum, les strepto-

coques poussent ensuite très abondamment sur de la gélose que l'on a eu soin d'arroser préalablement avec un peu de sérum de cheval.

Nous faisons nos cultures dans des boîtes de Roux, ayant 22 centimètres de longueur sur 11 centimètres de largeur. Une heure avant de procéder à l'ensemencement, on ajoute dans chaque boîte de gélose 1-1,5 c. c. de sérum chauffé de cheval; sur une gélose ainsi préparée, puis largementensemencée, on a, 24 heures après, une culture si riche que, pour être injectée dans les veines d'un cheval, elle a besoin d'être diluée dans 100 c. c. environ d'eau physiologique.

Ce milieu de *gélose sérum*, tout en fournissant une grande quantité de corps microbiens, offre cet avantage qu'il permet un dosage assez précis du virus injecté, ce qui n'est pas à dédaigner, vu la sensibilité extrême des chevaux aux *injections intraveineuses*, les seules que nous pratiquons pour les immuniser.

*
* *
*

A chaque injection nous introduisons de 6 à 8 différents streptocoques dont tous, sauf un seul, ont été isolés dans de streptococcies humaines (scarlatine, érysipèle, fièvre puerpurale, phlegmon, septicémie, etc.). Ces streptocoques de provenance humaine, étant généralement peu pathogènes pour les animaux de laboratoire, ne peuvent guère servir au dosage du sérum; c'est pourquoi nous leur avons adjoint un streptocoque qui, par des passages successifs, était rendu très virulent pour la souris et pour le lapin.

En admettant — ce n'est qu'une hypothèse — que le cheval s'immunise d'une façon à peu près égale vis-à-vis de tous les streptocoques qu'on lui inocule, il y a lieu d'espérer que le streptocoque virulent, qui a fait des passages, pourrait servir en quelque sorte d'indicateur de l'état d'immunité du cheval vis-à-vis de la totalité des streptocoques.

Chaque injection est suivie d'une forte réaction thermique (plus de 40°) qui, du reste, ne se maintient pas longtemps; après 48 heures, tout rentre dans l'ordre.

Mais, de temps à autre, on observe ceci : un cheval qui paraissait complètement rétabli, est de nouveau pris de fièvre,

10-15 jours après l'injection. Tantôt il accuse des troubles articulaires, tantôt il présente des phénomènes inflammatoires à quelque distance des articulations. Dans ce dernier cas on voit apparaître dans l'épaisseur des muscles un liquide séreux qui finit par se frayer un passage au dehors. L'animal maigrit et pendant des semaines il est hors de service. Dans un cas, le cheval est mort après quelques jours seulement de maladie; à l'autopsie faite par M. Frasey, médecin-vétérinaire de l'Institut Pasteur, on a trouvé les muscles de la région malade infiltrés de masses gélatineuses baignant dans un liquide séreux absolument stérile. Les mêmes altérations ont été observées chez un autre cheval qui, pris des mêmes symptômes, avait été abattu.

Ces accidents, dont les causes nous échappent et qui peuvent survenir à tous les stades d'immunisation, sont liés, évidemment, au mode d'inoculation; mais, si ce dernier procure des déboires, il offre aussi des avantages précieux, car il permet, en peu de temps relativement, d'obtenir un sérum doué de propriétés préventives et curatives très marquées.

*
* *

Voici quelques chiffres pour donner une idée du pouvoir thérapeutique de notre sérum.

Les dosages ont été faits sur des souris et sur des lapins.

Une souris inoculée sous la peau avec une dose plus de dix fois mortelle de streptocoques, peut être sauvée si on lui injecte 18-24 heures après 1/1000 c. c. de sérum dans le péritoine. Avec 1/40 — 1/400 c. c. de sérum on peut préserver dans les mêmes conditions contre une dose au moins 2,000 fois mortelle. La dose mortelle, prise comme unité, a été dans nos expériences égale à 1/16000000 c. c. de culture de 24 heures en bouillon-sérum; en réalité, on pourrait tuer une souris avec une dose beaucoup plus faible; mais nous nous sommes arrêtés au chiffre indiqué pour éviter de trop grandes dilutions.

Quant à l'effet préventif du sérum, il a été déjà manifeste avec des doses dix fois inférieures à celles qui étaient nécessaires pour obtenir un effet curatif.

Chez les lapins, il faut employer des doses plus fortes de

sérum; ainsi, après avoir inoculé sous la peau d'un lapin une dose de streptocoque plus que 100 fois mortelle (1/40,000 c. c.), on peut le sauver sûrement en lui injectant deux heures après, dans les veines ou dans le péritoine, 1,5 à 2 c.c. de sérum.

Ces chiffres ne sont pas définitifs; nous ne sommes pas encore arrivé au terme de l'immunisation, et nous espérons avoir sous peu des sérums plus actifs.

*
* *

Nous passons sur les propriétés agglutinantes du sérum sur lesquelles nous comptons revenir une autre fois pour nous arrêter sur ses propriétés fixatrices ou sensibilisatrices.

Le sérum antistreptococcique est, jusqu'à présent, à peu près le seul dans lequel on n'ait pas constaté la présence de fixateur. Aronson a voulu se rendre compte de la manière dont agit son sérum; après avoir mis le sérum en contact avec des streptocoques, il a pu s'assurer qu'il est resté après cela aussi actif qu'avant : les streptocoques n'ont donc rien fixé.

Grâce à l'obligeance de M. Aronson qui a bien voulu nous envoyer du sérum pur, non additionné de tricrésol, ainsi que son streptocoque, nous avons pu faire l'épreuve de Bordet-Gengou et nous assurer que, réellement, le sérum d'Aronson ne contenait que des traces de fixateur vis-à-vis de son propre streptocoque. Ce dernier, mis en présence du sérum spécifique et de la cytase (alexine), a laissé cette dernière à peu près complètement libre, de sorte que les globules sensibilisés, ajoutés quelque temps après, se sont dissous presque aussi bien que dans les tubes témoins, contenant du sérum normal.

Cette expérience fut répétée plusieurs fois et toujours avec les mêmes résultats.

Or, chose curieuse, le fixateur antistreptococcique que nous avons vainement cherché dans le sérum d'Aronson, est toujours présent dans tous les échantillons de notre sérum.

Cette différence doit tenir, évidemment, à ce que notre mode d'immunisation diffère de celui d'Aronson : d'abord, les chevaux d'Aronson sont immunisés avec des cultures en bouillon, alors que les nôtres reçoivent des cultures provenant du raclage de boîtes de gélose-sérum; puis, nous injectons toujours les microbes directement dans les veines, alors qu'Aronson, autant

que l'on peut juger d'après son mémoire, s'adresse de préférence à la voie sous-cutanée.

Les expériences ultérieures vont élucider cette question.

Ce qui nous intéresse en ce moment, ce n'est pas tant de connaître la ou les causes qui président à la production du fixateur que de se rendre compte du rôle que celui-ci joue dans les sérums spécifiques.

Ce rôle justifie-t-il le terme de « substance immunisante », ou « d'immuncorps » sous lequel le désignent généralement les auteurs allemands ?

Nous ne le pensons pas, et voici pourquoi :

Si le fixateur représentait réellement la substance active du sérum, celle qui lui confère son action spécifique, on aurait dû s'attendre à ce que le sérum d'Aronson, qui est presque dépourvu de fixateur, fût aussi presque dépourvu de propriétés préventives.

Or, ce sérum est sûrement très actif vis-à-vis du streptocoque d'Aronson et, sous ce rapport, nos expériences confirment en tous points les résultats annoncés par cet auteur.

Il y a donc dans le sérum d'Aronson autre chose que le fixateur ou « l'immuncorps » qui permet à l'animal de lutter avec succès contre les streptocoques.

Que le fixateur n'est pas tout dans un sérum spécifique cela ressort encore de l'observation suivante que nous avons eu l'occasion de vérifier à plusieurs reprises.

Afin de nous rendre compte de la marche de l'immunisation de nos chevaux, nous faisons de temps à autre de petites saignées d'essai ; à chaque saignée on essayait le sérum au point de vue de ses propriétés préventives, ainsi qu'au point de vue de sa teneur en fixateur, par le procédé de Bordet-Gengou.

Or, aucun parallélisme n'a pu être constaté entre ces deux propriétés dans les divers échantillons de nos sérums.

En plus, en examinant comparativement le sérum d'Aronson avec les échantillons des premières saignées, nous avons vu que ces derniers, tout en contenant le fixateur, étaient quatre fois moins actifs que le sérum d'Aronson qui en contenait des traces seulement.

Un sérum peut donc être actif sans renfermer de fixateur, et il peut renfermer le fixateur sans pour cela être bien actif.

Quel est le rôle de ce fixateur, nous l'ignorons pour le moment, mais, ce qui est certain c'est que l'animal n'en a pas besoin pour venir à bout des streptocoques.

*
* *

Comment agit donc le sérum?

Il n'est pas bactéricide; c'est un fait établi depuis longtemps.

Il n'a pas besoin d'être sensibilisateur, nous venons de le montrer.

Il n'exerce donc pas d'action *directe* sur les streptocoques.

Pour se rendre compte du mécanisme de cette action, on n'a qu'à regarder, microscope et pipette en mains, ce qui se passe *in vitro*. C'est ce que fit si bien Bordet en 1897 en se servant du sérum de Marmorek. Cette même question fut reprise récemment par Aronson pour son propre sérum. Nous-mêmes venons d'étudier le mécanisme de l'immunité passive en nous servant de sérum riche en fixateur.

Quel que soit le sérum, le mécanisme de son action est toujours le même : les phagocytes interviennent si vite après l'infection et opèrent un englobement si parfait des streptocoques que l'action du sérum sur les leucocytes ne peut pas être mise en doute.

Certes, on peut admettre que le sérum agit en raison de son pouvoir antitoxique, mais cette hypothèse n'a pour elle aucun fait expérimental. Étant donné notre mode d'immunisation par les corps microbiens, ne renfermant pas de toxine, il est peu admissible que ceux-ci produisent de l'antitoxine; quant au sérum d'Aronson, préparé avec des cultures en bouillon dont les filtrats ne sont que très peu toxiques, l'hypothèse d'une action antitoxique est aussi peu probable; elle n'est même pas soulevée par l'auteur.

Il ne reste donc qu'une seule interprétation possible qui s'accorde, du reste, très bien avec les données microscopiques et d'après laquelle la survie des animaux traités par le sérum est due à l'action stimulante que ce dernier exerce sur les globules blancs.

Cette interprétation trouve une confirmation indirecte dans le fait que nous avons signalé déjà, en passant, à savoir que le sérum agit différemment selon l'espèce animale. Ainsi, nous

possédons un streptocoque vis-à-vis duquel la souris et le lapin sont à peu près également sensibles. Or, tandis que pour protéger la souris contre une dose 100 fois mortelle de streptocoques, il suffit d'injecter 1/200 c. c. de sérum, une dose beaucoup plus élevée — 1,5-2 c. c. — de ce dernier est nécessaire pour obtenir le même effet chez le lapin, inoculé avec le même nombre de microbes.

Si le sérum devait son pouvoir curatif à l'action qu'il exercerait *directement* sur la toxine streptococcique ou sur les corps de streptocoques ne serait-on pas en droit de s'attendre à ce que l'effet du sérum fût le même qu'il s'agisse de lapins ou de souris ?

Si ce n'est pas une preuve, c'est au moins un argument en plus en faveur de l'action indirecte du sérum.

*
* *

Au commencement de cet article, il a été question de la multiplicité des streptocoques et de la nécessité qu'il y a, ne fût-ce que dans l'intérêt de la sérothérapie, de pouvoir établir une classification rationnelle.

Ni l'origine, ni les caractères cultureux, ni l'aspect microscopique, ni l'action pathogène ne fournissent d'éléments nécessaires pour ébaucher cette classification.

Aujourd'hui, chaque fois que l'on isole un streptocoque, que cela soit chez l'homme ou les animaux, à l'état normal ou au cours d'une affection grave, on est extrêmement embarrassé de dire si l'on se trouve en présence d'une nouvelle espèce ou d'un microbe déjà vu. Pour apporter un semblant d'ordre, on classe souvent les streptocoques d'après les maladies où on les avait rencontrés ; il est à peine besoin d'ajouter combien cette classification est illusoire.

On a pensé que l'agglutination pourrait fournir un critérium plus sûr ; mais de ce côté aussi il n'y a pas beaucoup à espérer, du moins pour le moment.

L'agglutination a été tour à tour invoquée pour plaider la parenté étroite de tous les streptocoques, de même que pour soutenir la thèse contraire, soit la spécificité de certains d'entre eux, et cela parce que l'agglutinine streptococcique n'est pas

comparable aux autres et ne se prête pas, comme l'agglutinine typhique, par exemple, à un dosage rigoureux.

D'abord, les streptocoques poussent souvent en amas qui ont à subir une désagglutination préalable, et, comme celle-ci n'a rien d'absolu, elle varie nécessairement avec chaque expérimentateur. Ensuite, le titre agglutinatif d'un sérum antistreptococcique peut varier, dans une large mesure, pour le même streptocoque, selon la virulence qu'il présente à un moment donné (Neufeld); de plus, le titre agglutinatif peut subir d'importantes variations, jusqu'à disparaître même, en présence de certaines substances (Weaver, Aronson). Bref, à l'heure actuelle, avec la technique que nous possédons, l'agglutination ne semble pas en état d'éclairer la question de l'individualité des streptocoques.

On sera peut-être plus heureux en s'adressant au phénomène de fixation.

Au cours de nos recherches sur les fixateurs dans les sérums antistreptococciques, nous avons employé, en plus des streptocoques ayant servi à l'immunisation, différents autres échantillons, à titre de contrôle.

En combinant de différentes façons sérums et streptocoques, nous avons acquis la conviction que les fixateurs sont rigoureusement spécifiques : un cheval immunisé avec un streptocoque déterminé A contient seulement le fixateur lui correspondant A"; vis-à-vis de tout autre streptocoque que A, le sérum de ce cheval se comporte comme un sérum normal, c'est-à-dire donne une réaction négative.

Telle est la règle générale; mais elle n'est pas absolue. Dans le nombre de streptocoques témoins, il est facile d'en trouver un ou deux (B, C) qui, mis en contact avec le fixateur A, se comportent tout à fait comme le streptocoque A.

Étant donnée la spécificité bien démontrée des fixateurs, il reste à conclure que ces nouveaux échantillons (B, C) sont identiques au streptocoque A ou, pour ne pas nous avancer trop, nous dirons qu'ils en sont très voisins.

C'est de cette façon que nous avons pu établir l'identité ou la parenté de trois streptocoques de provenance très différente, que jusqu'à ce jour nous considérions comme n'ayant rien de commun entre eux.

Un de ces streptocoques fut isolé par M. Roux du liquide

d'œdème chez un enfant mort de *septicémie* streptococcique; c'est avec ce streptocoque que nous avons immunisé un cheval; des deux autres streptocoques qui ont réagi spécifiquement vis-à-vis de ce même fixateur, un a été isolé du sang d'une femme morte d'*érysipèle* à l'hôpital Pasteur (strept. Girard-Loiseau), et l'autre nous a été très obligeamment envoyé de Vienne par M. Jellinek; il a été isolé du sang du cœur d'un enfant mort de *scarlatine*.

Ces trois streptocoques, isolés à des époques différentes, ont été cultivés depuis longtemps dans les mêmes milieux artificiels que tous les autres streptocoques; rien, dans leurs caractères biologiques, ni morphologiques, ne faisait prévoir la parenté entre ces trois échantillons, pas plus qu'entre ces derniers et les autres streptocoques de la collection.

On aurait donc dans le phénomène de fixation ¹ un moyen de différenciation très sensible qui permettrait de mettre un peu d'ordre dans cette question si importante de biologie et de médecine clinique.

C'est dans cette direction que vont être dirigés nos efforts.

1. La réaction est très facile à réaliser : on mélange 20 gouttes de sérum chauffé avec 4-6 gouttes de cytase et 15 à 20 gouttes d'émulsion assez épaisse de streptocoques dans l'eau physiologique; après 4-5 heures de contact, on ajoute des globules sensibilisés; pour les détails, voir le travail de Bordet et Gengou (*Ces Annales*, t. XV, p. 289). Rappelons que, si le streptocoque est déjà hémolytique à lui seul, il faut le chauffer à 60° pendant 1 heure; mais, s'il n'hémolyse pas, il est de beaucoup préférable de se servir de streptocoques vivants qui fixent notablement mieux que les chauffés. Les streptocoques proviennent dans nos expériences de cultures sur gélose-sérum.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU RÔLE DES STREPTOCOQUES AU COURS DE LA SCARLATINE

PAR MM. BESREDKA ET DOPTER

La présence de streptocoques dans la scarlatine a été de tout temps considérée comme un fait banal, et bien rares étaient ceux qui voulaient y voir autre chose qu'une simple association microbienne.

La communication bien connue de Moser ¹ au Congrès de Carlsbad fut de nature à ébranler sérieusement cette manière de voir; devant les beaux résultats thérapeutiques de son sérum anti-scarlatineux, nombre de bactériologistes ont fini par se demander si, dans leur dédain pour les chaînettes si souvent rencontrées dans la gorge ou le sang du cœur de scarlatineux, ils n'étaient pas passés à côté de l'agent pathogène de la scarlatine, ou du moins, d'un des agents les plus importants de cette affection. Et l'on eut beau se dire que la scarlatine avait des caractères trop bien définis pour être causée par un streptocoque, les témoignages de cliniciens, comme Escherich et Bokay, furent si éloquents que la question de spécificité du streptocoque scarlatineux a gagné beaucoup de terrain.

Donc, d'une part, fréquence incontestable du streptocoque au cours de la scarlatine, d'autre part, action spécifique du sérum préparé avec les streptocoques de la scarlatine, à l'exclusion de tout autre, tels sont les faits que Moser et ses partisans invoquent en faveur de la spécificité.

Mais, pour être réellement démonstrative, cette thèse aurait besoin de s'appuyer sur d'autres preuves, notamment sur celles que l'on a l'habitude d'apporter chaque fois qu'il s'agit de démontrer l'identité d'un microbe nouveau; nous voulons parler de la séro-réaction sous ses différentes formes.

Une des réactions les plus sensibles et les plus précieuses pour l'identification d'un microbe est, sans contredit, l'agglutination; dans l'immense majorité des maladies, spontanées ou expérimentales, le passage du microbe pathogène dans l'organisme

1. P. MOSER, *Wiener klin. Woch.*, n° 41, 9 oct. 1902; pp. 1053-1055.

est marqué, tôt ou tard, par l'apparition, dans le sang, de la réaction agglutinante : cette dernière est d'une sensibilité telle qu'elle révèle parfois la présence d'un microbe, même étranger à l'affection principale; tel est, par exemple, le cas du sérum des varioleux qui agglutine le streptocoque, satellite du microbe de la variole (de Waele).

Si donc le streptocoque qu'on rencontre dans la scarlatine jouait réellement le rôle important que lui attribue Moser, on aurait pu s'attendre à voir le sérum de scarlatineux doué d'un pouvoir agglutinant bien manifeste vis-à-vis de ce germe. Or, les nombreuses expériences de Moser lui-même et de v. Pirquet¹, les observations consciencieuses et variées de Weaver², enfin, celles toutes récentes de l'un de nous³ prouvent surabondamment qu'à aucun stade de la maladie le sérum de scarlatineux n'agglutine d'une manière spécifique les streptocoques recueillis chez ces malades. A part Salge qui a constaté une agglutination notable avec le sérum de scarlatineux, aucun des auteurs précédents n'a pu constater de différence nette à cet égard entre les streptocoques de la scarlatine et les autres streptocoques d'origine variée.

La recherche du pouvoir agglutinant vis-à-vis du streptocoque et surtout son appréciation ne sont pas sans présenter des difficultés, car bien souvent ce microbe pousse agglutiné dans les cultures, et pour pratiquer la réaction, il faut commencer par le désagglutiner, ce qui peut être obtenu de plusieurs façons. Ce traitement préliminaire rend naturellement difficile le dosage du titre agglutinatif du sérum, et les résultats notés par différents auteurs ne sont plus comparables entre eux. Weaver a particulièrement insisté sur ces causes d'erreur.

En présence de ces faits, nous avons pensé que la question serait peut-être plus facilement résolue par la recherche du fixateur (sensibilisatrice), au moyen du procédé devenu classique de Bordet et Gengou. Ce procédé d'une sensibilité remarquable a permis à ces auteurs de mettre en évidence dans différents sérums, les fixateurs pour le bacille typhique, le bacille de la peste, le bacille du rouget, etc.

1. MOSER et v. PIRQUET, *Centralbl. f. Bacter.*, I., Orig., t. XXXIV; pp. 560; 714.

2. WEAVER, *Journ. of infect. diseases*, vol I, pp. 91-106; 1904.

3. DOPFER, *Société de Biologie*, 14 mai 1904.

Or, les expériences de l'un de nous, exposées dans un mémoire précédent¹, ont montré que les animaux qui ont reçu en inoculation des cultures de streptocoques, ne font pas exception à la règle générale et qu'un pareil sérum peut aussi contenir un fixateur facile à mettre en évidence.

Dès lors nous pouvions nous demander si le sérum de scarlatineux ne contiendrait pas, lui aussi, une sensibilisatrice vis-à-vis du streptocoque de la scarlatine.

Le résultat positif serait, à n'en pas douter, la preuve évidente de l'intervention spécifique de ce germe dans l'étiologie de l'affection; il faut ajouter cependant qu'un résultat négatif ne serait pas de nature à infirmer complètement la thèse de Moser, car, même dans le sérum des chevaux longuement immunisés contre le streptocoque, nous avons vu le fixateur faire quelquefois défaut.

Cette restriction faite, résumons brièvement nos expériences.

Nous avons examiné le sérum de sept malades ayant présenté une scarlatine typique, terminée par guérison :

OBS. I. — Lang... Scarlatine à caractère grave. Forme nerveuse; rachialgie; hyperesthésie généralisée. Pseudo-rhumatisme. Fièvre ayant persisté 13 jours à partir du début.

Sérum prélevé le 30^e jour, en pleine convalescence.

OBS. II. — Lar... Scarlatine d'intensité moyenne. Pseudo-rhumatisme. 12 jours de fièvre.

Sérum prélevé le 32^e jour.

OBS. III. — Met... Scarlatine d'intensité moyenne. Albuminurie prolongée dans les premiers jours. Forme nerveuse : délire, agitation, 6 jours de fièvre modérée.

Sérum prélevé le 23^e jour.

OBS. IV. — Mach... Scarlatine de moyenne intensité. Forme nerveuse : agitation, délire, vertiges. Pseudo-rhumatisme; 10 jours de fièvre modérée.

Sérum prélevé le 12^e et le 27^e jour.

OBS. V. — Lav... Scarlatine de forme moyenne. 7 jours de fièvre modérée.

Sérum prélevé le 17^e et le 33^e jour.

OBS. VI. — Desch... Forme bénigne. 3 jours de fièvre légère.

Sérum recueilli le 7^e jour.

OBS. VII. — Mil... Forme grave, nerveuse. Pseudo-rhumatisme.

Sérum recueilli le 10^e et le 25^e jour.

Nous avons donc ainsi utilisé du sérum prélevé aux 7^e, 10^e,

1. Voir dans ce même fascicule : Le sérum antistreptococcique et son mode d'action.

12^e, 17^e, 23^e, 25^e, 27^e, 30^e, 32^e, 33^e jours; de plus, chez trois malades, le sang a été examiné trois fois, à quinze jours d'intervalle : les divers échantillons de sérum ont donc été prélevés à différents stades de la maladie. En outre, pour avoir un terme de comparaison, du sérum a été recueilli chez trois malades convalescents de pleurésie tuberculeuse, d'angine simple et d'érysipèle, et n'ayant jamais eu de scarlatine antérieure.

Tous les échantillons de sérum étaient préalablement chauffés à 56° pendant une demi-heure, puis conservés à la glacière.

Les streptocoques dont nous nous sommes servis, ont été cultivés sur gélose-sérum (voir le mémoire précédent).

Dans une première série d'expériences, les races de streptocoques employés (n° III et n° VII)¹ étaient isolées du sang du cœur de personnes mortes de scarlatine; dans une deuxième série, nous avons employé les streptocoques isolés des malades mêmes qui nous ont fourni le sérum.

Avant chaque expérience, on s'assurait que les streptocoques ne dissolvaient pas, à eux seuls, les globules rouges de lapin; pour la grande majorité de nos cultures, ce n'était pas le cas, au moins dans nos conditions d'expérience, c'est-à-dire qu'ils n'hémolysaient pas à la température du laboratoire, dans l'espace de 18 à 24 heures. Dès qu'on remarquait dans une culture une tendance à l'hémolyse, on faisait une expérience de contrôle avec la même culture, chauffée à 60° pendant une heure.

La cytase (alexine), nécessaire pour la réaction de fixation, était fournie par du sérum de cobaye saigné de la veille.

Nous avons l'habitude d'employer pour chaque sérum et chaque variété de streptocoques plusieurs tubes dans lesquels on plaçait des quantités variables de cytase (4 à 7 gouttes). La quantité de sérum humain dans lequel on recherchait le fixateur, était toujours la même : 20 gouttes; quant à la culture, le nombre de gouttes ajoutées variait de 10 à 20, suivant sa richesse.

Après cinq heures de contact entre le sérum humain à essayer, la cytase et les streptocoques, nous ajoutons des globules sensibilisés de lapin.

La réaction ne se faisait généralement pas longtemps attendre :

1. Ces streptocoques nous ont été gracieusement fournis par les docteurs Jellinek et R. Kraus, de Vienne; nous sommes très heureux de saisir cette occasion pour leur exprimer notre profonde reconnaissance.

après un quart d'heure environ, les résultats se dessinaient déjà très nettement ; ils devenaient encore plus accentués dans les heures suivantes.

Ces résultats peuvent être résumés de la façon suivante : dans aucun des échantillons de sérum provenant de malades atteints de scarlatine et en voie de guérison, il n'a été possible de constater la présence de fixateur, ni vis-à-vis de streptocoques isolés du sang du cœur, chez des personnes mortes de scarlatine, ni vis-à-vis de leur propre streptocoque, isolé de la gorge.

Le streptocoque que l'on rencontre dans la scarlatine, ne paraît donc pas être spécifique de cette infection ; il n'y intervient, probablement, qu'à titre d'agent d'association secondaire.

Sur l'isolement de la zymase dans les tissus animaux et végétaux

PAR P. MAZÉ.

J'ai établi que l'on peut isoler la zymase du mycélium jeune d'*Eurotiosis Gayoni* développé en voile superficiel, en large contact avec l'air¹; j'ai montré également que ce mycélium privé d'air pendant 24 à 48 heures ne s'enrichit pas en zymase comme la levure.

Ces faits démontrent que cette diastase se forme en vie aérobie et qu'elle est indispensable à l'assimilation du sucre.

M. Stoklasa et ses collaborateurs ont isolé récemment la zymase des végétaux et des tissus animaux².

Comme j'avais eu déjà l'occasion d'examiner cette question et de constater qu'une simple dessiccation dans le vide des graines de pois fermentés, ou des plantules de pois ou de maïs frais ou préalablement privés d'air pendant 48 heures et plus, suffit pour détruire la zymase qu'ils renferment, j'ai repris les expériences de M. Stoklasa et Czerny en suivant les indications qu'ils fournissent dans leur premier mémoire.

Mes essais ont porté sur des graines de pois placées sous l'eau à 30° pendant 48 heures: 5 kilogrammes; des plantules de pois dont on employait seulement les tiges longues de 5-10 centimètres: 500 grammes à l'état frais, — 500 grammes après une submersion préalable de 48 heures à 30°; des poumons de bœuf encore tièdes: 5 kilogrammes.

Les pois et les plantules ont été broyés entre deux cylindres de granit que l'on pouvait serrer à volonté; on les a ensuite broyés dans des grands mortiers avec du sable fin de Fontainebleau, puis additionnés de poudre de tripoli, de façon à obtenir une pâte friable, qui se laisse épuiser facilement par la presse hydraulique.

Les poumons étaient réduits en pulpe dans un fort hachoir à viande et traités ensuite comme les pois ou les plantules.

Le jus qui s'écoule de la presse est recueilli dans un ballon

1. C. R. Juin 1902. Les *Annales*, mai 1904.

2. J. STOKLASA, Joh. JELINK und. E. VITEK. *Beitrag, zur Chem. Phy. und. Patho.* Drifter Bd., p. 460, 1903, et STOKLASA und CZERNY, *Ber. d. d. Ch. Gesell.*, t. XXXVI, 24 février 1903, p. 622-634.

entouré de glace fondante; on a pressé, suivant les indications de M. Stoklasa, jusqu'à 300 atmosphères.

Le jus est aussitôt traité par un mélange d'alcool absolu (3 p.) et d'éther sec (1 p.), ce sont les proportions indiquées par Albert¹. On obtient ainsi un précipité volumineux qu'on jette sur un filtre et qu'on maintient sous l'éther pendant 2 à 3 minutes, de façon à entraîner complètement l'alcool; on lave une dernière fois avec de l'éther sec. Le précipité est alors essoré dans du papier buvard, puis desséché à l'air ou dans un courant d'air à 30°, ou dans le vide sulfurique. Toutes ces opérations, comme le recommandent les auteurs, ont été faites très rapidement.

La recherche de la zymase a été faite :

- 1° Dans le jus entier tel qu'il s'écoule de la presse;
- 2° Dans le précipité séché à l'air libre pendant quelques minutes; celui-ci renfermait donc encore un peu d'éther;
- 3° Dans les précipités séchés complètement dans un courant d'air et dans le vide.

Les auteurs ont fait usage de précipité séché dans un courant d'air à 30°.

Pour observer la production de CO^2 et l'instant précis où le dégagement commence, j'ai introduit le jus entier à 15 0/0 de glucose, ou les solutions de glucose à 15 0/0 additionné de 10 grammes d'extrait éthéro-alcoolique, dans des ballons de 150 c. c. environ munis d'un tube à dégagement soudé au col, et dont la branche descendante a de 80 à 100 centimètres de longueur; la branche ascendante porte un tube latéral qui permet d'introduire le liquide à étudier et de faire immédiatement le vide à la trompe. Le ballon scellé à la flamme est ouvert sous le mercure, qui monte dans les tubes à dégagement à une hauteur que l'on note.

Dans ces conditions, voici ce que j'ai observé :

- 1° Le dégagement de gaz commence au bout de 12-16 heures à 30°; de 10-12 heures à 38°;

2° Les premières portions de gaz recueillies sous le mercure renferment toujours de l'hydrogène de 50 à 60 0/0 en volume; le reste étant du CO^2 ;

3° Le toluène à 1 0/0 et le sublimé à 0,01 0/0 retardent le dégagement gazeux, si on la compare au thymol 0,4 0/0. Le

1. *Berichte d. d. Chem. Gesell.*, t. XXXIII, 1900, p. 3775.

thymol est donc le plus faible des trois antiseptiques employés par les auteurs, bien que le toluène et le sublimé soient également très médiocres dans les conditions indiquées;

4° Le jus entier de poumon fermente beaucoup moins activement que les extraits éthéro-alcooliques; il faut attribuer ce résultat à la présence de substances antiseptiques que le jus normal emprunte aux cellules. Le fait est général; je l'ai observé non seulement avec les sucs animaux mais avec ceux de la levure, de l'eurotiopsis, des pois, des plantules de maïs, de ricin, de pois, etc...;

5° Les liqueurs qui ont fermenté très activement renferment de l'alcool, de l'acide lactique et de l'acide acétique.

En résumé, on trouve tous les éléments des fermentations microbiennes.

J'ai isolé ces microbes avec le concours de M. Perrier; nous en donnons les caractères et les propriétés dans une p. — note.

M. Stoklasa et ses collaborateurs ont négligé de déterminer la nature des gaz fournis par les fermentations et de préciser l'instant exact où le dégagement commence.

Ce sont justement les seuls facteurs qui leur auraient démontré que les fermentations observées ne sont ni immédiates, ni tumultueuses dès le début; elles doivent être rattachées exclusivement à une origine microbienne.

Voilà ce que j'avais obtenu dès le mois de juin 1903. Depuis, les auteurs ont publié bien d'autres résultats et précisé enfin, en la variant, leur méthode de recherches.

Leurs affirmations sont devenues moins absolues. L'intervention des microbes a été envisagée et écartée à tort, puisqu'ils n'ont pas recherché l'hydrogène dans les gaz des fermentations; ils ajoutent même qu'ils ont démontré l'existence de la diastase lactique dans les végétaux et les tissus animaux; ils auraient dû étendre leur conclusion à la diastase acétique.

J'ai répété mes essais en me conformant ponctuellement aux dernières indications des auteurs et en opérant encore sur des poumons de bœuf, parce que c'est l'organe qui semble, d'après leurs résultats, renfermer le plus de zymase. J'ai séparé les sucs qui s'écoulaient jusqu'à 250 at. et à partir de 250 at. jusqu'à 400, pour les traiter ensuite séparément.

Ces essais m'ont fourni exactement les mêmes résultats que

les premiers. La conclusion qui en découle est donc la suivante : les cellules végétales et animales renferment de la zymase puisqu'elles produisent de l'alcool; mais les méthodes d'isolement employées jusqu'ici ne permettent pas de l'extraire¹.

1. Voir plus loin.

Sur le rôle des microbes dans la fermentation alcoolique que

M. Stoklasa attribue à la zymase isolée des tissus végétaux ou animaux.

PAR P. MAZÉ ET A. PERRIER.

L'un de nous a montré, dans la note précédente, que les extraits de végétaux frais ou fermentés, de tissus animaux frais, additionnés de 15 0/0 de glucose, fermentent au bout de quelques heures à 30°, sous l'influence des microbes ; le dégagement de CO² et la production d'alcool doivent être attribués au développement de microorganismes et non, comme l'affirment M. Stoklasa et ses collaborateurs, à la présence d'une zymase fournie par les cellules végétales ou animales.

Ces derniers ont constaté aussi la présence de bactéries dans les solutions à la fin de leurs expériences ; mais les espèces qu'ils y ont rencontrées (*B. coli commune*, *B. subtilis*, *B. fluorescens*) ne donnent pas d'alcool.

Les milieux obtenus en additionnant 100 c. c. d'une solution de glucose à 15 0/0, de 10 grammes d'extrait de tissus végétaux ou animaux, sont cependant très favorables au développement des microbes producteurs d'alcool et des ferments lactiques et, en réalité, ce sont eux qui s'y implantent ; nous avons toujours constaté qu'ils y prédominent.

Nous en avons isolé 4 espèces, *a*, *b*, *c*, *d*, différentes par leur aspect microscopique, leur mobilité et les caractères que présentent leurs cultures sur divers milieux ; elles font fermenter les solutions de glucose à 15 0/0 en bouillons nutritifs en moins de 24 heures à 30° ; la fermentation n'est pas accompagnée de dégagement visible de gaz, mais le liquide reste toujours sursaturé de CO² et mousse abondamment quand on l'agite.

L'activité des cultures persiste pendant très longtemps, et, quand on met fin à l'expérience, on constate que la liqueur est très peu acide, peu riche aussi en alcool. C'est la conclusion qui découle des chiffres du tableau I.

TABLEAU I.

Cultures en solutions de glucose à 15 0/0 (Bouillon de haricot 100 c. c.)

Espèces cultivées.	Acidité totale en $C^2H^4O^2$ p. 1,000.	Alcool pour 100 en volum.	Sucre disparu. Grammes.	Durée des cultures
<i>a</i>	0,888	0,200	3,733	42 jours.
<i>b</i>	0,806	0,180	3,333	12 —
<i>c</i>	0,555	0,250	4,049	12 —
<i>d</i>	1,110	0,213	3,733	12 —

On voit que l'alcool et les acides ne représentent pas le 1/10 du sucre détruit; on constate en outre que les 4 espèces microbiennes sont assez voisines comme propriétés physiologiques.

Quelques prises de gaz faites sous le mercure ont été soumises à l'analyse; on y a constaté de l'hydrogène et du CO^2 .

Ces microbes font fermenter également le bouillon de viande additionné de glucose.

L'espèce *b* a été cultivée dans ce milieu en présence de différents sucres. Les résultats que nous avons obtenus sont réunis dans le tableau II.

TABLEAU II.

	Lactose 5 0/0	Maltose 5 0/0	Lévulose 15 0/0	Mannite 2 0/0	Glycérine 5 0/0	Amidon 2 0/0
Acidité totale en $C^2H^4O^2$ p. 1000	3,845	4,825	0,331	2,676	1,825	0,747
— volatil. —	3,329	»	»	»	»	»
Alcool p. 100	0,103	0,147	0,250	0,5	0,487	0,07
Sucre restant p. 100	3,421	0,93	1,00	»	»	»
Durée des cultures	28 jours	28 j.	42 j.	28 j.	28 j.	28 j.

La glycérine et la mannite fournissent comme on le voit la plus grande proportion d'alcool; on n'a pas constaté la présence de sucres réducteurs dans les milieux additionnés de glycérine ou de mannite.

L'amidon fermente également en donnant une petite quantité d'alcool.

En 6 semaines, le microbe détruit 14 grammes de lévulose sur 15, et on ne trouve comme résidu qu'un peu d'alcool et des traces d'acides; le lévulose a été entièrement brûlé.

La puissance comburante du bacille *b* se manifeste encore en l'absence d'oxygène, car il est anaérobie facultatif, comme les trois autres, d'ailleurs.

Une expérience réalisée en vase clos, dans un ballon de 3 litres avec 100 c. c. de bouillon de haricot renfermant 2^{gr},266 de glucose, nous a donné les résultats suivants au bout de 48 heures à 30° :

CO ² dégagé en poids.....	1 ^{er} ,301
— en volume.....	660,2 c. c.
H dégagé en poids.....	0 ^{er} ,0292
— en volume.....	330,2 c. c.
Acidité totale en C ² H ⁴ O ³	0 ^{er} ,091
Alcool.....	0 ^{er} ,813
Acidité volatile en C ² H ⁴ O ²	0 ^{er} ,083
Poids de microbes.....	0 ^{er} ,1231

La proportion d'alcool est plus élevée en vie anaérobie qu'en vie aérobie ; mais une fraction sensible du sucre a disparu par combustion totale ; l'eau a été décomposée ; l'oxygène a servi à oxyder le sucre ou plus exactement l'alcool qui manque ; l'hydrogène a été mis en liberté ; les acides fixes manquent ; les acides volatils sont constitués par de l'acide acétique et une faible proportion d'acide formique.

Un fait à rapprocher des résultats de M. Stoklasa, c'est la disproportion qui existe entre l'alcool réduit et le CO² dégagé ; la même anomalie se retrouve dans les chiffres de la communication que l'auteur a faite au congrès de Chimie appliquée de Berlin (juin 1903), ceux qui se rapportent du moins à l'action des extraits de tissus animaux.

La raison de cette anomalie est facile à donner dans nos expériences ; il n'est pas douteux que les chiffres de Stoklasa doivent s'interpréter de la même façon.

En résumé, l'étude bactériologique vient confirmer, à son tour, les conclusions formulées dans la note précédente les résultats obtenus par M. Stoklasa et ses collaborateurs sont exacts, si on ne considère que la nature des fermentations qui se déclarent dans les solutions de glucose additionnées d'extraits végétaux ou animaux ; mais l'origine des diastases qui y interviennent est tout autre que celle qu'ils indiquent.

SUR LA FERMENTATION MANNITIQUE

PAR MM. U. GAYON ET E. DUBOURG.

Dans un important mémoire publié dans ces *Annales* en septembre 1903, MM. P. Mazé et A. Perrier ont étudié la production de la mannite par un microbe issu d'un vin malade et par le ferment que nous avons nous-mêmes isolé en 1894. Leurs résultats, sensiblement identiques pour les deux ferments, diffèrent en plusieurs points de ceux que nous avons obtenus¹. C'est ainsi qu'en aucun cas ils ne trouvent de glycérine ni d'acide succinique et que, par contre, ils observent de l'alcool dans les fermentations du lévulose en bouillon de haricots.

Avant d'appeler l'attention sur ces divergences, nous avons tenu à répéter nos expériences avec notre ferment, en variant les milieux de culture et en nous plaçant, en particulier, dans les mêmes conditions que MM. P. Mazé et A. Perrier.

Nous n'avons rien à changer aux conclusions de nos travaux précédents. Comme dans nos premiers essais, nous obtenons toujours de l'acide succinique et de la glycérine, et en proportions plus grandes avec le glucose qu'avec le lévulose. La production de glycérine vient d'ailleurs d'être confirmée par M. Laborde², non seulement avec notre ferment, mais encore avec des microbes extraits de vins malades, dans lesquels il a, le premier, reconnu le pouvoir de faire de la mannite avec le lévulose.

Il n'est donc pas permis de négliger l'acide succinique et la glycérine dans le bilan des transformations du glucose et du lévulose produites par le ferment mannitique. Et, comme les matières dosées par MM. P. Mazé et A. Perrier représentent déjà plus de 100 0/0 des sucres employés, il faut bien admettre que quelques-uns au moins de leurs chiffres sont trop élevés et que certaines de leurs méthodes d'analyse ne comportent pas une précision suffisante.

Pour établir l'équation de la réaction, et spécialement pour rechercher et doser l'acide succinique et la glycérine, il est utile que tout le sucre ait disparu de la culture; or, il n'en est pas ainsi dans le mémoire dont il s'agit. On peut déduire en effet de l'une des expériences faites avec notre ferment :

1. *Annales de l'Institut Pasteur*; juillet 1901.

2. *C. R.* 25 janvier 1904.

	Glucose.	Lactose.
Sucre total employé.....	36 ^{gr} , 000	30 ^{gr} , 000
Sucre disparu.....	13, 110	24, 379
Sucre restant.....	22, 890	5, 621

Le volume de chaque liquide de culture étant de 1,200 c. c., c'est donc environ 19 grammes de glucose et 4^{gr},7 de lévulose par litre que le ferment n'avait pas touchés. On comprend que, dans ces conditions, il ait été difficile d'extraire la glycérine et l'acide succinique par les procédés habituels.

En ce qui concerne la formation d'alcool aux dépens du lévulose, MM. P. Mazé et A. Perrier ne paraissent pas l'avoir cherchée avec le bouillon Liebig ni avec l'eau de levure où ni M. La-borde ni nous n'en avons trouvé; mais, avec le bouillon de haricots, ils en ont obtenu 0^{gr}, 527, soit 0^{cc}, 75 pour 1,200 c. c. de liquide, ce qui représente environ 0^{cc}, 6 par litre ou 6/10,000. A ce degré de dilution, il est bien possible de caractériser l'alcool, mais non de le doser avec exactitude, surtout si l'on tient compte, comme il est nécessaire, des causes d'erreurs résultant de la nature spéciale des bouillons et des impuretés du lévulose employé.

La présence accidentelle d'aldoses ou de saccharoses, producteurs normaux d'alcool, oblige en effet à faire des corrections incertaines, souvent de même ordre de grandeur que les nombres trouvés.

En fait, avec du lévulose parfaitement pur et avec du bouillon de haricots, exempt de sucre réducteur, nous n'avons pas obtenu d'alcool.

Dès lors, si l'alcool est absent, il n'y a pas lieu de le faire intervenir pour expliquer la formation de la mannite en face du lévulose; et la théorie basée sur l'oxydation de cet alcool par les ferments anaérobies, assurément très ingénieuse, ne se trouve pas ici justifiée. Il est d'ailleurs difficile d'admettre que le même ferment soit capable d'oxyder l'alcool en présence du lévulose et non en présence du glucose, et de faire de l'acide acétique par deux processus différents dans le premier cas et par simple dédoublement diastasique dans le second.

Quant au microbe qu'ils ont puisé dans un vin tourné, les auteurs n'établissent pas qu'il soit réellement un ferment de la tourne, puisqu'ils ne l'ont cultivé ni dans un vin sain ni dans des solutions d'acide tartrique libre ou combiné.

SUR QUELQUES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DES DIFFÉRENTS VENINS DE SERPENTS

PAR LE D^r F. NOC

Médecin aide-major de 1^{re} classe des troupes coloniales.

Travail du laboratoire de M. Calmette.

Les nombreux et importants travaux qui ont été publiés au cours de ces dernières années sur les venins ne sont pas encore parvenus à élucider d'une façon précise le mécanisme de l'action de ces substances toxiques sur les différents tissus ou humeurs de l'organisme. La complexité de leur constitution, suivant l'espèce du serpent qui les fournit, d'une part, et, d'autre part, les effets variés qu'ils produisent sur le sang, sur les endothéliums vasculaires ou sur les éléments nerveux, en rendent l'étude extrêmement difficile.

Il ne faut donc pas s'étonner de rencontrer, dans les publications dont ils ont été l'objet, des interprétations contradictoires de faits pourtant bien observés : c'est ainsi que, d'après certains expérimentateurs, les venins coagulent le sang *in vitro* et *in vivo*, tandis que d'autres ont trouvé qu'ils empêchent la coagulation.

Des contradictions analogues peuvent être signalées dans les divers travaux sur les propriétés hémolytique ou protéolytique.

J'ai donc pensé faire œuvre utile, en reprenant, sous la direction de M. Calmette, avec diverses espèces de venins, l'étude comparée de leurs fonctions hémolytiques, protéolytiques, coagulantes ou anticoagulantes et neurotoxiques, en vue de préciser davantage leurs caractères physiologiques différentiels.

I

POUVOIR HÉMOLYTIQUE COMPARÉ DES VENINS DES SERPENTS.

Le pouvoir hémolytique constitue une des propriétés physiologiques les plus importantes des venins. Constaté *in vivo* depuis

longtemps, il a fait l'objet; tout récemment, de plusieurs travaux qui ont déterminé le mode d'action *in vitro* des hémolysines du venin sur les globules rouges de diverses espèces animales ¹.

Les recherches de Kyes, effectuées dans le laboratoire du professeur Ehrlich, ont surtout contribué à élucider le *mécanisme intime de l'action hémolytique* ². Celles que j'ai entreprises ont eu pour principal but de préciser les modalités de cette action avec les diverses espèces de venins.

Dans cet ordre d'idées, MM. Flexner et H. Noguchi, expérimentant avec les venins de Cobra, de Mocassin, de Copper-head, et de Serpent à sonnettes, ont déjà publié un certain nombre de faits importants ³.

Ces savants ont pris comme unité hémolytique vis-à-vis de différents érythrocytes (M. H. D.) la dose minima de venin nécessaire pour produire une trace d'hémolyse en 24 heures sur 1 c.c. de sang défibriné dilué à 5 0/0.

Cette méthode, conforme aux principes de la théorie chimique de l'hémolyse d'Ehrlich et Morgenroth, n'est pas avantageuse pour comparer avec exactitude les divers venins : en effet, la dose minima active est souvent difficile à apprécier vis-à-vis de globules dont la résistance est variable chez la même espèce animale; et, d'autre part, la longue durée de l'expérience est susceptible d'amener des modifications importantes dans les milieux en présence, en raison des autres propriétés (digestive, agglutinante, etc.) des venins étudiés.

Dans mes expériences, j'ai employé une dilution de 5 parties de globules de cheval (lavés et centrifugés plusieurs fois) dans 95 parties d'eau salée physiologique à 9 0/00. A cet état de dilution, ces globules ne s'hémolysent jamais sous la seule influence du venin. Pour que l'hémolyse apparaisse, il est

1. W. STEPHENS, On the hemolytic action of snake toxins and toxic sera. (*Journ. of. path. and bact.* 1899-1900).

FLEXNER et H. NOGUCHI, Snake venom in relations to hemolysin and toxicity. (*Journ. of. experim. med.* 17 th March 1902).

CALMETTE, Sur l'action hémolytique du V. de Cobra (*C. R. Ac. des Sc.* 1902).

P. KYES, Ueber die Wirkungsweise des Cobragiftes (*Berlin. Klin. Wochens.* 1902, n° 38-39).

2. P. KYES, Zur Kenntniss der Cobragift activirenden Substanzen (*Berlin. Klin. Wochens.* 1903, n° 2-4; — Ueber die Isolirung von Schlangengift-Lecithiden (*Berlin. Klin. Wochens.* 1903, n° 42 und 43).

3. FLEXNER et H. NOGUCHI, The constitution of snake venom and snake sera (*Univ. of Pensylv. medic. Bull.* nov. 1902).

nécessaire de restituer à 1 c. c. de la dilution, 0 c. c. 2 de sérum de cheval. Je me suis servi de sérum normal chauffé à 58°, afin de me placer dans des conditions toujours aussi identiques que possible (absence d'alexine ¹).

Les différents venins de serpents sont tous hémolytiques, mais à des doses très variables. En vue de l'étude comparative que je désirais poursuivre, j'ai pris comme base, pour chaque venin, la dose unitaire de 1 milligramme (0 c. c. 1 d'une solution à 1 0/0 fraîchement préparée et non filtrée, car la filtration sur porcelaine diminue sensiblement le pouvoir hémolytique) et je notais le temps strictement nécessaire pour que 1 milligramme de venin hémolysât complètement (solution uniformément limpide) 1 c. c. de globules lavés et dilués à 5 0/0 ².

Les venins que j'ai expérimentés provenaient des espèces suivantes d'Ophidiens, déterminées d'après la classification du « catalogue of Snakes » de Boulenger (*British Museum de Londres*).

COLUBRINÉS.	{ Cobra (<i>Naja tripudians</i>), Inde.	
	{ Naja noir (<i>Naja nigricollis</i>), serpent cracheur de Guinée.	
	{ Bungare (<i>Bungarus caeruleus</i>), Inde.	
	{ Hoplocephalus variegatus (<i>H. bungaroides</i>), Australie.	
VIPÉRINÉS.	Vipérinés..	{ Vipère de France (<i>Pelias berus</i> , <i>Vipera berus</i>).
		{ Daboia (<i>Vipera Russellii</i>), Inde.
	Crotalinés.	{ Mocassin (<i>Ancistrodon piscivorus</i>), Amérique du Nord.
		{ Copper-head ¹ (<i>Ancistrodon contortrix</i>), Amérique du Nord.
		{ Trimeresurus Riukinanus (<i>L. flavoviridis</i>), du Japon.
		{ Jararacussu (<i>L. lanceolatus</i>), Brésil.
	Lachesis	{ Jararaca (<i>L. lanceolatus</i>), Brésil.
		{ Urutu (<i>L. Newwedii</i>), Brésil.
		{ Bothrops (<i>L. lanceolatus</i>), Martinique.

1. *Trionocephalus contortrix* de certains auteurs.

Voici les résultats fournis par plusieurs séries d'expériences:

Avec 1 c. c. de globules de sang de cheval lavés et dilués à

1. Certains sérums non chauffés, comme l'a montré M. Calmette, favorisent moins l'hémolyse que les sérums chauffés. (*C. R. Acad. des Sc.* 1902.)

2. En lisant les divers travaux sur les hémolysines en général et l'hémolyse par les venins en particulier, j'ai été frappé de ce fait que les expérimentateurs emploient des doses très variables de substance hémolysante et des produits hémolysables préparés de manière différente, les uns se servant du sang défibriné de divers animaux, d'autres de dilutions globulaires à différents titres. J'ai pensé qu'il était préférable d'utiliser toujours les mêmes doses de venin, en faisant agir sur des globules bien lavés et débarrassés de toutes traces de sérum les substances capables d'activer le venin.

5 0/0, en présence de 0,2 de sérum de cheval normal chauffé à 58°.

1 milligr. de venin de Cobra	donnait une hémolyse complète en	5 min.
— — Bungare	— —	10 —
— — Naja noir	— —	20 —
— — <i>Haplocephalus</i>	— —	40 —
— — <i>Vipera berus</i>	— —	60 —
— — Daboia	— —	30 —
— — <i>Trimeresurus</i>	— —	35 —
— — Mocassin	— —	40 —
— — Copper-head	— —	60 —
— — Jararacussu	— —	2 h.
— — Jararaca	— —	2 h. 1/2
— — Urutu	— —	3 h.
— — Bothrops	— —	3 h.

J'ai trouvé préférable de me servir pour ces expériences de globules provenant du même cheval. Ces globules se conservent quelques jours à la glacière : les variations de la température influent sur la rapidité de l'hémolyse. Toutefois, avec des globules bien lavés, les limites dans lesquelles varie l'action hémolysante sont peu prononcées pour les venins d'un même groupe.

On voit, par le tableau précédent, que le pouvoir hémolytique est le plus intense chez les venins de la famille des Colubridés (Protéroglyphes). L'hémolyse devient moins rapide à mesure qu'on se rapproche des Crotalinés. Elle est très lente avec les venins du genre *Lachesis*. Le venin du *Trimeresurus Riukinanus*, classé parmi les *Lachesis*, renferme toutefois une hémolysine assez active.

On peut supposer, conformément à la théorie d'Ehrlich, que la molécule hémolysante du venin de Cobra, par exemple, a de nombreux groupes haptophores, capables de se combiner aux récepteurs du globule rouge, ce qui expliquerait la grande puissance hémolytique de ce venin. Le venin de *Bothrops*, au contraire, posséderait des groupes haptophores beaucoup moins nombreux.

On constate, d'autre part, que le sérum normal chauffé à 58° et ajouté aux globules rouges joue un rôle capital dans l'hémolyse par les venins. En augmentant la dose de sérum dans de notables proportions, on accroit sensiblement le pouvoir hémolytique des venins faibles : l'action dissolvante du venin de *Bothrops*, par exemple, peut, grâce à cette addition de sérum, se manifester en quelques minutes, alors que de fortes doses de sérum seul laissent intacts les érythrocytes.

Dans ses publications récentes, P. Kyes a montré quel est le principe actif dans l'hémolyse par les venins ¹. Ce principe est la *lécithine* qui jouerait le rôle de complément, d'après la théorie d'Ehrlich. On peut même obtenir une combinaison de venin et de *lécithine*, la *lécithide*, qui, isolément, est capable d'hémolyser toutes les espèces de globules rouges. La nature de cette dernière substance n'est pas encore complètement élucidée; mais il paraît bien établi que la substance hémolytique du venin se combine avec la *lécithine* des sérums suivant des proportions variables et qu'il s'agit bien là d'une véritable combinaison chimique. Celle-ci agit-elle en mettant en liberté de la névrine ou de l'acide distéaryl-phosphoglycérique qui amènerait la dissolution des globules? Ou bien ne fait-elle que de déplacer la *lécithine* du globule rouge? Ce sont là des questions auxquelles l'état actuel de nos connaissances ne nous permet pas de répondre. Il est cependant à noter que cette nouvelle substance, la *lécithide*, est plus résistante à la chaleur que chacun de ses composants, puisqu'on peut la chauffer plusieurs heures à 100° sans que son pouvoir hémolytique soit même atténué, tandis que le venin de Cobra et les *lécithines* ne supportent pas une ébullition prolongée (KYES) ².

Il semble, d'autre part, que les hémolysines des divers venins sont de nature très voisine. Kyes a pu obtenir des *lécithides* très actives avec les venins de différentes espèces, et j'ai pu moi-même constater qu'en augmentant la quantité de *lécithine* dans les expériences *in vitro*, on peut égaliser l'intensité d'action des venins.

Les différences que montre le pouvoir hémolytique de divers groupes de venins sont cependant très grandes. Le venin de Cobra et celui de Bungare par exemple ont une action dissolvante rapide pendant laquelle les cellules n'ont pas le temps de s'agglutiner. Avec les venins des Crotalinés et des Vipérinés, il existe une période d'agglutination qui accompagne l'hémolyse partielle des globules. Il semble se produire un temps d'arrêt

1. *Loc. citato*.

2. La résistance de diverses espèces de globules résulte peut-être de ce que la constitution chimique de l'hémoglobine est variable suivant les espèces animales. On sait que les cristaux d'oxyhémoglobine sont de forme variée : on peut penser qu'il existe un rapport entre cette cristallisation, indice d'une constitution différente, et la résistance à l'hémolyse.

dans la dissolution, après lequel le laquage du sang devient parfait.

Le venin de *Bothrops lanceolatus* produit une précipitation rapide des globules au fond du tube : l'hémolyse apparaît ensuite et n'intéresse tout d'abord qu'une partie des hématies. Puis, lentement, les érythrocytes agglutinés finissent par s'hémolyser et la dissolution s'achève en 3 heures. Il semble que l'hémolysine, n'existant ici qu'en faible quantité au début de l'expérience, épuise son action sur la deuxième moitié de globules, de même que l'on épuise la force hémolytique d'un sérum par l'addition de doses fractionnées de globules rouges.

Cette différenciation des hémolysines montre en somme qu'en étudiant l'action hémolysante d'un venin vis-à-vis d'une espèce de globules à résistance moyenne comme ceux du cheval, il est possible de déterminer avec assez de précision à quel groupe de la classification zoologique se rattache le reptile qui a produit ce venin.

On peut arriver, d'autre part, à obtenir avec certains venins des sérums antihémolytiques à doses variables contre la plupart des espèces de venins de serpents, ce qui tendrait à démontrer, avec les considérations précédentes, que l'activité de ces sécrétions est due à la présence, sinon d'une substance hémolysante unique, du moins de substances de nature similaire dont un sérum antihémolytique, spécifique pour une sorte de venin déterminée, peut mesurer le degré de similitude.

Immunisons par exemple un animal contre un venin d'espèce A. La dose antihémolytique du sérum de cet animal étant connue à l'égard du venin A, nous pouvons rechercher si cette dose est active contre la dose unitaire (1^{mgr}) des venins B, C, etc. Nous pourrions voir alors que ces venins B, C... exigent pour neutraliser leur hémolysine d'autant plus de sérum actif que celle-ci s'éloigne de l'hémolysine A par ses caractères.

Avec le sérum d'un animal immunisé contre le venin de *Cobra* et contre celui de *Bothrops lanceolatus*, il m'a fallu les doses suivantes pour neutraliser la dose unitaire (1^{mgr}) de divers venins en présence de 1 c. c. de globules lavés, dilués à 5 0/0, et de 0^{cc},2 de sérum normal chauffé à 58°.

SÉRUM antivenimeux.	VENINS	HÉMOLYSE
0 c. c. 5	V. Cobra.	0
0 c. c. 5	V. Bothrops.	0
0 c. c. 5	V. Urutu.	0
0 c. c. 5	V. Bungare.	0
0 c. c. 6	V. Jaraçaca.	0
0 c. c. 6	V. Naja noir.	0
0 c. c. 7	V. Vipère.	0
1 c. c.	V. <i>Trimeresurus</i> .	Hémolyse.

On sait que le pouvoir antitoxique d'un sérum antivenimeux est surtout en rapport avec son action antineurotoxique. Cependant, l'expérience montre que les deux pouvoirs antineurotoxique et antihémolytique se superposent ordinairement et qu'un sérum très antitoxique vis-à-vis d'une espèce venimeuse empêche le plus souvent l'hémolyse par les autres venins. On peut donc déduire des données précédentes qu'un sérum antihémolytique et antitoxique contre le venin de Cobra est aussi antihémolytique et antitoxique contre les venins de Naja Noir, de Bungare, et contre d'autres venins du même groupe de Colubridés, ou même contre certains venins de Vipéridés, bien qu'il n'ait été élaboré qu'avec l'aide du venin de Cobra seul. L'échelle d'antitoxité de ce sérum vis-à-vis de ces divers venins peut être dressée d'après les doses nécessaires pour neutraliser leur action hémolytique, comme l'ont déjà montré M. Stephens et M. Calmette.

En résumé, de l'étude comparée du pouvoir hémolytique chez les différents venins de serpents, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° La différenciation des hémolysines permet de classer les venins en plusieurs groupes qui se rapprochent des groupes déterminés par les naturalistes dans la classification des espèces venimeuses ;

2° Cette étude des propriétés hémolytiques des venins montre que les mêmes lois ont présidé à la différenciation mor-

phologique des espèces venimeuses et à la différenciation fonctionnelle de leurs glandes à venin. Elle permet de compléter ou de confirmer les bases de la classification naturelle ;

3^e L'échelle d'activité antitoxique d'un sérum antivenimeux vis-à-vis de plusieurs venins peut être dressée par la mesure *in vitro* de son pouvoir antihémolytique (en tenant compte, bien entendu, des propriétés spéciales à chaque espèce de venin et de la résistance propre à chaque espèce animale).

II

POUVOIR COAGULANT DES VENINS DE SERPENTS

Lorsqu'on fait l'autopsie des animaux qui succombent à l'inoculation de divers venins ou d'un même venin à doses variables, on trouve le sang tantôt coagulé en masse, tantôt dissous.

Weir Mitchell¹ expliquait ces différences par l'hypothèse que dans le cas de mort rapide, le sang n'avait pas le temps d'être modifié par le venin et la coagulation ne se produisait pas, tandis que, si la mort survenait plusieurs heures après la morsure, le venin agissait sur les éléments du sang et coagulait ce liquide.

Les travaux ultérieurs de J. Fayrer, de Halford, de C.-J. Martin, de Lamb, montrent que cette hypothèse n'est pas justifiée et que certains venins produisant presque toujours la coagulation du sang *in vivo* et *in vitro*, d'autres, au contraire, ne la produisent jamais.

En serrant de plus près l'étude de cette question, j'ai constaté que les venins de Colubridés — du moins ceux que j'ai pu expérimenter — *Naja Tripudians*, *Naja Nigricollis*, *Bungarus caruleus*, ne coagulent jamais le sang *in vitro*, ni les plasmas chlorurés, oxalatés, citratés, fluorés, ni le sang rendu incoagulable par l'extrait de sangsue.

Au contraire, les venins de Vipéridés sont presque tous plus ou moins coagulants et j'ai pu les ranger d'après l'intensité de leur action coagulante sur les divers plasmas, dans l'ordre suivant :

¹ *Smithsonian Institution (1860-1861) et Experimental contrib. to the toxical of Rattlesnake Venom. (New-York, 1868).*

PROPRIÉTÉS DES DIFFÉRENTS VENINS DE SERPENTS 395

CROTALINÉS: *Lachesis lanceolatus* (Bothrops), Martinique.

Lachesis urutu (Neuwiedii), Brésil.

Lachesis jararaca, Brésil.

Lachesis jararacussu, Brésil.

Lachesis flavoviridis ou *Trimeresurus Riukinanus*, Japon.

VIPÉRINÉS: *Vipera Russellii* (Daboia), Birmanie.

J'ai trouvé tout à fait inactifs deux venins de Crotalinés de l'Amérique du Nord : *Ancistrodon contortrix* et *Ancistrodon piscivorus*.

Il y a donc une différenciation très nette entre les divers venins au point de vue de leur pouvoir coagulant : cette différenciation paraît être en raison inverse de celle que présente leur pouvoir hémolytique.

J'ai étudié spécialement l'action *in vitro* du venin du *Lachesis lanceolatus* de la Martinique sur les divers plasmas citratés, chlorurés, oxalatés, fluorés et sur le sang rendu incoagulable par l'extrait de têtes de sangsues.

Voici les résultats de mes expériences :

DOSES de venin de <i>Lachesis lanceolatus</i> .	+ 1 C. C. DE PLASMA DE LAPIN OU DE CHEVAL				
	Citraté.	Chloruré.	Oxalaté.	Fluoré.	A la sangsue.
1 mgr....	Coagulation en 3'.	Coagulation en 10'.	Coagulation en 10'.	Coagulation en 5'.	Coagulation en 3'.
2 mgr....	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
3 mgr....	Coagulum diffluent.	Coagulum diffluent.	Coagulum diffluent.	Coagulum diffluent.	Coagulum diffluent.
4 mgr....	Pas de coagulation.	Pas de coagulation.	Pas de coagulation.	Pas de coagulation.	Pas de coagulation.
5 mgr....	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
10 mgr....	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.

Donc les doses faibles de venin de *Lachesis* coagulent rapidement les divers plasmas¹, tandis que les doses supérieures à 3 milligrammes ne coagulent plus.

J'ai observé d'autre part que le même venin chauffé perd ses propriétés coagulantes. Celles-ci s'affaiblissent déjà à partir

1. Plasma citraté à 1 p. 100; pl. oxalaté à 2 p. 1000; pl. chloruré au NaCl à 4 p. 100; pl. fluoré à 3 p. 1000 : 1 c. c. de ces plasmas coagule en 15 à 20 minutes par addition de 0^{cc},4 à 0^{cc},6 d'une solution de CaCl² à 0,50 p. 100.

de 58° et disparaissent entièrement après une demi-heure de chauffage à 80° en tube scellé.

Mécanisme de l'action coagulante du venin. — On sait que dans les plasmas citratés, chlorurés, oxalatés, la plasmase (ou fibrin-ferment) se trouve inactivée et que celle-ci réapparaît lorsqu'on ajoute au plasma des doses suffisantes de chlorure de calcium. Or, le venin, produisant une coagulation plus rapide de ces plasmas que l'addition de chlorure de calcium, on peut en conclure qu'il agit en activant la mise en liberté de la plasmase.

Nos connaissances sur la nature de la plasmase étant encore à l'heure actuelle fort limitées, il est difficile toutefois d'affirmer si le venin agit simplement par activation de la plasmase à la façon des extraits d'organes, ou comme une véritable plasmase.

La substance coagulante de ces venins est précipitable par l'alcool. Le précipité redissous a les mêmes propriétés que la solution de venin originelle.

Les globules rouges ne jouent aucun rôle dans la coagulation par le venin : si l'on sépare ces globules par centrifugation du plasma, le venin coagule le plasma déglobulisé dans le même temps et avec la même intensité que le sang total. D'ailleurs l'action destructive du venin sur les hématies ne peut intervenir dans la coagulation : celle-ci est un phénomène presque instantané, tandis que l'hémolyse nécessite avec le venin de *Lachesis lanceolatus* plusieurs heures de contact.

L'examen microscopique du mélange de sang et de venin ne décèle d'ailleurs aucune altération ni des globules rouges, ni des leucocytes.

Le sérum antivenimeux n'empêche nullement l'action coagulante des venins. Il est facile d'expliquer ce fait, puisque les venins qui servent à l'élaboration du sérum ont été chauffés à 70, température à laquelle est fort atténué leur pouvoir coagulant.

Il est possible toutefois de préparer des sérums actifs contre la substance coagulante des venins en se servant de venins non chauffés injectés à petites doses fréquemment répétées; de tels sérums pourraient rendre des services dans les contrées où abondent presque uniquement les serpents à venin coagulant.

En résumé, les divers venins de serpents se différencient

nettement d'après l'intensité de leur pouvoir coagulant sur le sang.

Il est possible d'utiliser cette différenciation pour une classification rationnelle des espèces venimeuses. Les venins coagulants paraissent agir en activant le fibrin-ferment ou en provoquant sa mise en liberté dans le sang.

La différenciation des venins au point de vue de leur pouvoir coagulant permettra d'expliquer plusieurs des divergences qui séparent les observations des physiologistes sur les effets du venin sur la coagulation *in vivo*.

III

PROTÉOLYSE PAR LES VENINS

Si la propriété coagulante est l'apanage de quelques espèces de venins, les phénomènes de protéolyse s'observent, comme le processus hémolytique, à un degré variable avec tous les venins de serpents. Il est possible d'en faire l'étude comparative soit *in vivo*, soit *in vitro*, sur les albuminoïdes du sérum, sur la fibrine, sur les endothéliums vasculaires, sur le collagène des tissus, sur l'ovalbumine coagulée, etc.

I. Protéolyse et incoagulabilité du sang. — Parmi ces phénomènes protéolytiques, les plus importants sont ceux qui se produisent aux dépens de la fibrine dissoute (fibrinogène) et provoquent l'*incoagulabilité* du sang. De nombreux expérimentateurs ont noté qu'à la phase de coagulation du sang par les venins succédait une phase d'*incoagulabilité* et des divergences se sont produites depuis de longues années sur l'interprétation de ce phénomène variable lui-même suivant les venins et la technique expérimentale.

J'ai pu étudier *in vitro* l'*incoagulabilité* du sang sous l'influence de diverses espèces de venins et j'ai pu me convaincre que ce phénomène était lié intimement dans tous les cas à l'action protéolytique de ces sécrétions.

J'ai constaté tout d'abord que ni le sang au sortir des vaisseaux, ni les plasmas citratés, oxalatés, etc., lorsqu'ils ont été traités par les venins, ne sont susceptibles de se coaguler ni spontanément, ni par addition de doses de chlorure de calcium

suffisantes pour coaguler des quantités égales en tubes témoins.

L'apparition de l'incoagulabilité est plus ou moins accélérée suivant les doses de venin employées. C'est ainsi que le venin de *Lachesis lanceolatus*, qui coagule 1 c. c. de plasma citraté à la dose de 1, 2 ou 3 milligrammes, manifeste la propriété anticoagulante à partir de 4 milligrammes.

Enfin le temps de contact nécessaire pour produire l'incoagulabilité est à considérer : 1 milligramme de venin de *Lachesis lanceolatus* qui coagule 1 c. c. de plasma en 2 à 5 minutes liquéfie le coagulum en 10 à 12 heures s'il s'agit du sang total, en 3 heures s'il s'agit du plasma déglobulisé. Ce plasma, ainsi dissous, est incoagulable désormais, soit par dilution, soit par addition de CaCl_2 .

En comparant les divers venins d'après ces variations, j'ai pu les ranger dans l'ordre suivant selon l'intensité de leur action anticoagulante :

CROTALINÉS	{	<i>Ancistrodon piscivorus</i> (mocassin).
		<i>Ancistrodon contortrix</i> (copper-head).
		<i>Lachesis lanceolatus</i> (Brésil et Martinique).
		<i>Trimeresurus Riukinanus</i> .
VIPÉRINÉS : <i>Vipera Russellii</i> (daboia).		
COLUBRIDÉS	{	<i>Naja nigricollis</i> (serpent cracheur).
		<i>Bungarus caeruleus</i> .
		<i>Naja tripudians</i> (cobra).

Il est important de considérer, pour expliquer ce qui se passe chez l'animal envenimé, que les venins *coagulants* eux-mêmes, employés à dose suffisante, provoquent rapidement l'incoagulabilité du sang. J'ai vérifié ce fait non-seulement pour les venins du genre *Lachesis*, mais aussi pour celui d'un vipériné, le *Daboia Russellii*. Dans son étude comparative du V. de cobra et du V. de daboia, Lamb¹, ayant voulu démontrer la différenciation profonde de ces deux venins, a constaté que ce dernier est coagulant même à la dose de 5 milligrammes. Or avec la dose de 6 milligrammes, j'ai obtenu l'incoagulabilité du sang, ce qui montre bien que le V. de daboia rentre, à ce point de vue, dans la loi générale.

Voici quelles sont les doses fixes anticoagulantes que j'ai obtenues pour les principaux types de venins :

1. G. LAMB, *On the action of the venoms of the Cobra and of the Daboia on the red blood corpuscles and on the blood plasma*. Calcutta, 1903.

VENINS	DOSES	PLASMAS citratés, oxalatés, etc.	RÉSULTATS par addition, 10 minutes après, de 1 c. c. sol. CaCl_2 à 0,50 0/0.
		1 c. c.	Coagulation en 15 minutes.
<i>Ancistrodon piscivorus</i> .	4 mgr.	1 c. c.	Pas de coagulation en 24 heures.
<i>Ancistr. contortrix</i> ...	2 mgr.	1 c. c.	— — —
<i>Lachesis lanceolatus</i> ...	4 mgr.	1 c. c.	— — —
<i>Vipera Russellii</i>	6 mgr.	1 c. c.	— — —
<i>Naja tripudians</i>	10 mgr.	1 c. c.	— — —

Le processus protéolytique dans le phénomène de l'incoagulabilité est facile à mettre en évidence avec le venin de *Lachesis*, puisque celui-ci digère le plasma coagulé à la dose de 1^{mgr} : l'incoagulabilité consécutive est bien la résultante de la digestion de la fibrine précipitée.

Quant aux venins non coagulants de Colubridés et de certains Crotalinés, on peut démontrer qu'ils agissent sur la fibrine dissoute ou plutôt sur le fibrinogène du sang. En effet :

1° Les plasmas au venin diffèrent essentiellement des plasmas à la peptone, à la sangsue, etc., dans lesquels l'incoagulabilité passagère est provoquée par la neutralisation du fibrin-ferment. On sait que ces plasmas, soumis à l'action de *thromboses*¹, coagulent, soit par addition d'eau distillée, ou de sels solubles de chaux, soit spontanément après un temps variable. Le plasma à la sangsue coagule également, par addition de substances qui accélèrent la mise en liberté de fibrin-ferment, telles que les doses faibles de venin de *Lachesis*.

J'ai constaté par contre que les plasmas rendus incoagulables par le venin de Cobra ne sont susceptibles de se coaguler ni par addition de venin de *Lachesis*, ni par addition de sérum anti-venimeux, de sérum normal ou de sérum physiologique, ni par addition de CaCl_2 .

Ces plasmas sont donc profondément modifiés non dans leur principe coagulant, mais dans leur substance coagulable.

En présence de 1 c. c. de divers plasmas et de 1 milligrammes de venin de cobra :

1. DUCLAUX, *Traité de microbiologie*, t. II, Diastases.

VENIN de cobra.	4 HEURES après, addition de	RÉSULTATS
1 mgr.	1 mgr. V. <i>Lachesis</i> .	Pas de coagulation en 24 heures.
—	0 c. c. 5 sérum antivenimeux.	— — —
—	0 c. c. 8 — — —	— — —
—	0 c. c. 5 sérum normal.	— — —
—	0 c. c. 8 — — —	— — —
—	0 c. c. 8 solution physiologique.	— — —
—	0 c. c. 4 solution de CaCl_2 .	— — —
	0 c. c. 4 — — —	Coagulation en 20.'

2° Il est d'ailleurs possible d'étudier isolément l'action des venins sur les albuminoïdes dissoutes et sur la fibrine.

Launoy¹ a constaté, en expérimentant sur les substances albuminoïdes dissoutes (caséine, albuminoïdes du sérum de bœuf) que les venins de Cobra et de Vipère produisent la désintégration de la molécule albuminoïde. Il a vu, d'autre part, comme l'avait établi Delezenne² en ce qui concerne l'ovalbumine coagulée, que ces venins sont sans action sur les albuminoïdes coagulés (ovalbumine et albuminoïdes du sérum) et sur la fibrine.

MM. Flexner et H. Noguchi³ ont observé l'action liquéfiant des venins de Crotale et de Cobra sur la gélatine et ont vu aussi la désintégration des fibres musculaires *in vitro* par ces venins.

II. *Action protéolytique des venins sur la fibrine et la gélatine.* — En étudiant l'action protéolytique des venins sur la fibrine isolée par battage du sang et desséchée, j'ai pu constater le parallélisme étroit de la fibrinolyse et de l'action anticoagulante.

Je résume dans le tableau ci-après les résultats que j'ai observés avec la fibrine du sang de cheval et celle du sang de lapin en milieu toluolé à 37°.

1 c. c. solution à 10/0 V. <i>Ancist. piscivorus</i>	digère 3 cgr. fibrine en	2 heures.
1 c. c. — — — V. <i>Ancist. contortrix</i>	— — —	2 — — —
1 c. c. — — — V. <i>Lachesis lanceol.</i>	— — —	2 — — —

1. Sur l'action protéolytique des venins. *C. R. Ac. des Sc.* 1^{er} septembre 1902 et *Thèse doct. ès sc.* Paris, 1903, n° 1138.

2. Sur l'action kinasique des venins. *C. R. Ac. des Sc.* 11 août 1902.

3. The constitution of snake venom and snake sera (*Univ. of. Pensylv.* 1902).

PROPRIÉTÉS DES DIFFÉRENTS VENINS DE SERPENTS 401

1 c. c. solution à 1/100	V. <i>Trimeresurus R.</i>	digère 3 cgr. fibrine en 3 heures.
1 c. c. — — —	V. <i>Daboia Russellii</i>	— — — 24 — —
1 c. c. — — —	V. <i>Naja tripudians</i>	} attaquent légèrement la fibrine en 24 heures.
1 c. c. — — —	V. <i>Naja nigricollis</i>	
1 c. c. — — —	V. <i>Bungarus caeruleus</i>	

J'ai obtenu, d'autre part, des résultats presque identiques en étudiant l'action protéolytique des venins sur la gélatine.

On peut utiliser dans ce but une solution de gélatine à 20 p. 100, thymolée à 2 p. 1000. On mélange intimement à 1 c. c. de cette gélatine encore liquide 1 milligramme de chaque venin (0 c. c. 1 de solution à 1/100) dans de petits tubes qu'on porte à l'étuve à 37°. Les tubes sont retirés toutes les heures et plongés dans l'eau à 15°. On note au bout de combien de temps de séjour à l'étuve les tubes restent liquéfiés avec la dose unitaire de 1 milligramme de venin¹.

Il résulte de ces recherches comparatives que les phénomènes d'incoagulabilité sont bien liés à l'action protéolytique.

J'ai constaté d'ailleurs que l'action fibrinolytique des venins et l'action anticoagulante sont complètement détruites pour les divers venins à la température de 80° après une demi-heure de chauffage au bain-marie en tubes scellés.

Il n'est donc pas nécessaire de faire intervenir dans le phénomène de l'incoagulabilité par les venins les théories émises ces dernières années par les physiologistes sur les substances anticoagulantes, notamment par C.-J. Martin (1895)², Delezenne (1897-1898-1899)³, C. Phisalix (1899-1902-1903)⁴. En dehors du rôle du foie dans l'incoagulabilité, Delezenne attribue à la résistance respective des leucocytes et des hématies suivant les espèces une part importante dans les variations de la coagulabilité, tandis que Phisalix estime qu'il faut rattacher ces variations sous l'influence des venins à la présence dans le sang de certains animaux d'une antihémolysine, à celle d'une sensibilisatrice chez d'autres.

1. G. MALFITANO, Protéolyse par l'*Aspergillus niger*. Ces *Annales*, 1900, p. 60.

2. C.-J. MARTIN, On the physiol. action of the venom of the Austral. black snake. (*Pseudechis porphyriacus*). Melbourne, 1895.

3. C. DELEZENNE, Action du ser. d'anguille et des extraits d'organes (*Arch. de physiologie*, 1897). Action leucolytique des agents anticoagulants du groupe de la peptone. (*Arch. de physiologie* 1893.) — Erythrolyse et actions anticoagulantes. (*Soc. biol.*, 28 oct. 1899.)

4. C. PHISALIX, Venins et coagulation du sang (*Soc. biol.* 28 oct. 1899). — *Soc. biol.* 4 nov. 1899 (V. de vipère, peptone et extrait de sangsue). — Action du v. de vipère sur le sang de chien et de lapin (*Soc. biol.*, 26 juillet 1902). — Rapports des venins avec la biol. générale. (*Rev. générale des sciences pures et app.*, 30 déc. 1903.)

Je me suis rendu compte que dans les plasmas incoagulables par les venins de Cobra, de Mocassin, de Lachesis, etc., l'examen microscopique ne révèle d'altération, ni des leucocytes, ni des hématies. Certains leucocytes ont même conservé leurs mouvements amiboïdes. Les phénomènes d'hémolyse et de leucolyse n'apparaissent *in vitro* que *tardivement* ou par l'emploi de doses très fortes de venin plus que suffisantes pour produire l'incoagulabilité.

Il est sans doute difficile d'isoler la substance anticoagulante ou protéolytique des venins de la substance hémolysante. L'alcool et les sels précipitent presque toutes les substances albuminoïdes dans les solutions aqueuses : on retrouve toutes les propriétés du venin dans le précipité redissous dans l'eau physiologique. Mais il est possible de provoquer l'hémolyse de diverses espèces de globules avec des venins chauffés à 80° ayant perdu toute action coagulante ou anticoagulante.

Je me suis assuré d'ailleurs que le sérum antivenimeux n'empêche pas l'action anticoagulante des venins *in vitro*. Ce phénomène tient à ce que le sérum est préparé à l'aide de venins chauffés à 70° et ayant perdu presque entièrement leur pouvoir anticoagulant. Or ce même sérum est fortement anti-hémolytique, ce qui montre bien que les antihémolysines ne jouent aucun rôle dans les phénomènes de coagulation et d'incoagulabilité.

En résumé :

1° Tous les venins de serpents possèdent une action protéolytique variable sur les substances albuminoïdes non coagulées par la chaleur ;

2° Leur action fibrinolytique explique leur rôle important dans les phénomènes d'incoagulabilité du sang à la suite des injections de venin ;

3° La substance protéolytique et anticoagulante des venins est détruite par le chauffage à 80° ;

4° Les hémolysines et les antihémolysines n'ont aucune corrélation avec les phénomènes de coagulation et d'incoagulabilité ;

5° Il y aurait intérêt à préparer des sérums contre la substance protéolytique et anticoagulante des venins.

IV

NEUROTOXINES

Lorsqu'on injecte sous la peau d'animaux sensibles des doses mortelles de divers venins, on observe des phénomènes fort différents suivant les espèces venimeuses. Alors que les venins du Colubridés tuent par action neurotoxique et paralysie bulbair¹, sans provoquer d'autres phénomènes locaux qu'un peu d'œdème au point d'inoculation, les venins de la plupart des Vipéridés produisent des désordres violents dans les tissus : hémorragies en nappe dans tous les points où a diffusé le venin, apparition plus ou moins étendue d'une eschare suivie d'une véritable digestion des tissus et des pertes de substance considérables. Les venins de Vipéridés possèdent donc une propriété qui les différencie nettement des autres venins : c'est ce que l'on appelle la propriété hémorragipare.

Il était intéressant de rechercher si ces venins possèdent au même titre que les venins de Colubridés la *neurotoxine* dont l'action est masquée par les effets des substances hémorragipares.

Les travaux de M. Calmette et de MM. Phisalix et Bertrand ont déjà bien montré que le chauffage des venins vers 80° leur fait perdre leur propriété phlogogène, tandis que le pouvoir toxique n'est détruit, pour des doses massives, qu'à une température voisine de l'ébullition. En chauffant les divers venins graduellement de 60° à 80° pendant une demi-heure en tube scellé au bain-marie, j'ai pu me rendre compte que tous les venins perdent complètement la propriété hémorragipare et ne déterminent chez la souris qu'un léger œdème pour toute réaction locale.

Il est nécessaire, dans ces essais à diverses températures, d'expérimenter tour à tour avec des doses simplement mortelles et des doses massives : on observe en effet que certains venins tels que celui de Daboia qui ne développent plus d'hémorragie à la dose de 1 milligramme, après chauffage à 70°, sont encore hémorragipares à la dose de 1 centigramme.

On peut donc arriver à débarrasser les venins de toute substance hémorragipare par le chauffage à 80°. Par centrifugation on sépare les substances coagulées et l'on obtient des

1. CALMETTE, Etude expérim. du v. de Cobra, ces *Annales*, 1892.

solutions limpides qui doivent contenir la neurotoxine, puisque celle-ci n'est détruite qu'aux environs de 100° et au delà¹.

D'après cette méthode, j'ai pu rechercher les doses de neurotoxine mortelles en 1 h. 1/2 à 2 heures pour la souris et j'ai obtenu les résultats suivants :

DOSES MORTELLES DE VENIN
(Solutions fraîchement préparées à 1 0/0.)

V. Cobra	0 ^{gr} ,00005 et 0 ^{gr} ,0001
V. Naja noir	0 ^{gr} ,0004
V. Bungare.....	0 ^{gr} ,0004
V. Daboia	0 ^{gr} ,0008
V. Mocassin	0 ^{gr} ,001
V. <i>Trimeresurus</i>	0 ^{gr} ,001
V. <i>Lachesis lanc.</i>	0 ^{gr} ,005 et 0 ^{gr} ,006

DOSES MORTELLES DE NEUROTOXINE
(Solut. de venin ch. à 80° et centrifugées.)

V. Cobra	0 ^{gr} ,0001
V. Naja noir	0 ^{gr} ,0004
V. Bungare.....	0 ^{gr} ,0004
V. Daboia	0 ^{gr} ,001
V. Mocassin	0 ^{gr} ,03 à 0 ^{gr} ,05 ¹ .
V. <i>Trimeresurus</i>	{ Ne tue pas à
V. <i>L. lanceolatus</i>	{ 0 ^{gr} ,05 centigr.

1. La résistance peut se prolonger au-delà de 2 heures.

Donc les venins fortement hémorragipares (Crotalinés) possèdent une neurotoxine très peu active ou sont dépourvus de neurotoxine et ne déterminent la mort des animaux que par les lésions réactionnelles qu'ils provoquent dans les tissus (coagulation, protéolyse, hémorragies).

Il est à remarquer toutefois que, dans ces expériences, la propriété neurotoxique ne résiste pas isolément, mais que les venins ont conservé pour la plupart leur propriété hémolytique. Seule l'hémolysine peu active des venins de *Lachesis* est détruite à 80° ; les autres sont conservées intégralement. Ce fait différencie d'une part la propriété hémorragipare, qui est indépendante des hémolysines, et montre en outre l'affinité étroite qui existe entre les neurotoxines et les hémolysines du venin, affinité déjà connue par la concordance d'action des antihémolysines et des antineurotoxines du sérum antivenimeux.

Pour compléter ces notions, j'ai recherché les doses de sérum nécessaires pour neutraliser les neurotoxines isolées à

VENINS	NEUROTOXINE	DOSE DE SÉRUM antineurotoxique pour la souris.
V. Cobra.....	0 gr. 0001.	0 c. c. 015 ou 0 c. c. 02.
V. Naja noir.....	0 gr. 0004.	0 c. c. 08 à 0 c. c. 1.
V. Bungare.....	0 gr. 0004.	0 c. c. 1.

1. CALMETTE, Ces *Annales* 1894-1897.

80°. J'ai obtenu les résultats ci-après qui sont d'ailleurs identiques pour les venins chauffés et non chauffés.

Ce sont là les résultats les plus importants au point de vue pratique, ces venins étant éminemment toxiques et les plus répandus.

En ce qui concerne le V. de Daboia, il y a lieu d'admettre que sa neurotoxine est différente de celle du V. de Cobra, le sérum préparé contre ce dernier n'ayant pour résultat que de retarder la mort de l'animal. Il serait intéressant de préparer un sérum contre la neurotoxine de ce venin, bien qu'il soit peu répandu et agisse également par ses substances hémorragipares.

Les venins des Crotalinés enfin étant dépourvus de neurotoxine ou possédant une neurotoxine d'action extrêmement faible, il serait surtout utile de chercher à préparer des sérums efficaces contre les substances coagulante et protéolytique.

CONCLUSIONS

Sécrétions de nature complexe, les venins de serpents présentent, dans leur constitution, des substances importantes pour le physiologiste, dont les principales sont des *hémolysines*, des *coagulines*, des *protéolysines* et des *neurotoxines*.

Ces substances confèrent aux divers venins des caractères nettement différenciés qui peuvent servir à confirmer ou à compléter les bases de la classification zoologique des espèces venimeuses.

C'est ainsi que les venins de Colubridés sont des venins pourvus d'hémolysines et de neurotoxines résistantes à la chaleur. Parmi les venins de Vipéridés, la plupart des Crotalinés ont des propriétés coagulante et protéolytique énergiques, mais sont dépourvus de neurotoxine et possèdent des hémolysines peu résistantes. Les venins de Vipérinés occupent une place intermédiaire, par leurs caractères physiologiques, entre les venins des Colubridés et ceux des Crotalinés.

Les venins de serpents possèdent encore d'autres propriétés (cytolytique, leucolytique, agglutinante, amylolytique, etc.), encore peu connues.

On pourrait trouver dans l'étude de ces propriétés de nou-

veaux éléments de différenciation des venins et en retirer des conclusions importantes pour la chimie générale des sécrétions et des produits cellulaires.

Je remercie M. Calmette des conseils si bienveillants qu'il m'a prodigués pendant l'exécution de ce travail.

ACTION DU SÉRUM DE CHEVAL CHAUFFÉ

INJECTÉ DANS LE PÉRITOINE

Son utilisation en chirurgie abdominale

PAR LE D^r RAYMOND PETIT

Depuis les travaux de M. Metchnikoff, on sait que l'organisme se défend contre les infections microbiennes par un mécanisme particulier, la phagocytose. — Cette découverte comportait comme déduction pratique que tous les moyens aptes à stimuler la sortie des leucocytes au niveau du foyer infecté, devaient favoriser la phagocytose et par conséquent aider à la guérison.

Dans la cavité péritonéale en particulier, certaines substances déterminent un appel leucocytaire très accusé qui peut être utilisé pour combattre l'infection de la séreuse.

Sur les conseils de M. Metchnikoff, j'ai cherché à voir dans quelle mesure cette propriété pourrait être utilisée dans les opérations abdominales en général et plus particulièrement dans celles qui sont pratiquées pour des affections septiques.

C'est dans son laboratoire à l'Institut Pasteur que nous avons pu faire les expériences dont nous allons exposer brièvement les résultats ¹

Dans mes premières expérimentations, je pratiquais la laparotomie chez un cobaye préparé par une injection intra-péritonéale d'eau physiologique faite la veille, et chez un cobaye témoin; chez les deux animaux je faisais une perforation intestinale, je laissais sortir un peu de matières fécales dans le péritoine, puis je suturais la perforation et refermais l'abdomen. Voici les résultats obtenus.

Dans une 1^{re} expérience, le cobaye préparé est mort 41 heures après le cobaye témoin; dans une 2^e expérience, le cobaye préparé est mort 24 heures plus tard que le cobaye témoin. Un second cobaye témoin a survécu après avoir fait une péritonite

1. Voir notre première communication à la Société de biologie du 28 décembre 1901, p. 4815.

localisée, mais la perforation intestinale avait porté sur une anse vide.

Les résultats de cette dernière expérience prouvaient que les infections ne pouvaient pas être exactement comparables. J'essayai alors de faire une perforation, de la suturer sans laisser sortir de matières et d'injecter dans le péritoine des quantités déterminées de matières fécales de cobaye.

Dans une 1^{re} expérience, le cobaye préparé est mort 26 heures plus tard que le cobaye témoin.

Dans une 2^{me} expérience, le cobaye préparé est mort 24 heures plus tard que le témoin.

De toutes ces expériences il ressort un fait, c'est que l'animal préparé par l'injection intra-péritonéale d'eau physiologique résiste plus longtemps que les témoins.

Mais il y a encore dans ces deux dernières expériences des conditions défectueuses. J'essayai de déterminer la dose minima de matière fécale de cobaye nécessaire pour tuer un animal de même espèce par injection intra-péritonéale et je me rendis vite compte que les diverses prises de matières n'avaient pas le même pouvoir infectant et qu'il était impossible de faire ainsi deux expériences comparables entre elles.

J'ai donc dû reprendre des expériences analogues à celles que Isaëff avait faites avec le bacille du choléra. Pour cela, j'ai déterminé d'abord la dose mortelle de cultures de bacilles typhiques, de *bactérium coli*, de staphylocoques, en injection intra-péritonéale chez le cobaye. Je me servais, pour chaque espèce microbienne, d'une même race en culture de 24 heures, sur gélose inclinée ; j'émulsionnais la totalité de cette culture en surface, dans 10 c. c. d'eau physiologique et j'injectais à une série de cobayes des doses progressivement croissantes de cette émulsion dans la cavité péritonéale.

Entre temps, j'ai cherché à savoir, comme Isaëff, quelle est la substance dont l'injection intra-péritonéale détermine le plus puissant appel de leucocytes polynucléaires et par conséquent stimule le mieux la phagocytose.

J'ai donc injecté comparativement dans le péritoine des cobayes de l'eau physiologique, du sérum de cheval chauffé. Toutes les 2 heures je prélevais, avec une pipette très effilée, un peu du liquide exsudé dans la cavité péritonéale et, l'examinant au

microscope, je pouvais suivre pour ainsi dire pas à pas les progrès de l'afflux leucocytaire. Le sérum de cheval nous a paru produire manifestement une leucocytose maxima. Cette leucocytose est notamment beaucoup plus abondante et plus durable que celle qui résulte déjà d'une simple laparotomie; elle atteint son maximum au bout de 24 heures environ.

C'est donc au sérum de cheval normal que nous avons donné la préférence.

Sur le conseil de notre ami M. Besredka, nous avons fait chauffer ce sérum au bain-marie pendant 2 heures, à la température de 55° avant de l'utiliser, parce que le sérum chauffé est de ce fait même beaucoup moins toxique. Ajoutons que ces injections qui produisent un afflux leucocytaire ne déterminèrent aucun accident chez les animaux. Elles sont inoffensives.

Le liquide à injecter étant choisi et la dose mortelle d'une culture exactement déterminée, j'ai préparé un certain nombre de cobayes par une injection intra-péritonéale de sérum de cheval chauffé. Le lendemain je leur injectais dans le péritoine de une à cinq fois la dose mortelle de culture émulsionnée, tandis que des animaux témoins recevaient de la même façon une dose mortelle, sans avoir subi l'injection préparante de sérum.

Les résultats ont été très caractéristiques et constants dans toutes les séries d'expériences. Avec le bacille typhique comme avec le *bactérium coli*, les animaux préparés ont tous survécu à des injections de 5 fois la dose mortelle, tandis que tous les témoins, avec une seule dose mortelle, ont succombé en 24 à 30 heures.

Avec le staphylocoque, les résultats ont été identiques et les animaux préparés ont pu résister à 6 et 8 doses mortelles, tandis que tous les témoins sont morts en 24 à 32 heures.

J'ai cherché à répéter ces expériences avec des cultures de streptocoques et de gonocoques, mais je n'ai pas pu y parvenir. Il m'a été en effet impossible d'entraîner la mort des animaux avec des injections intra-péritonéales de gonocoques; avec le streptocoque, je n'ai pas pu déterminer la dose mortelle, parce que j'expérimentais sur le cobaye qui lui résiste bien.

Il est donc possible par une injection intra-péritonéale de sérum de cheval chauffé de provoquer une polynucléose consi-

dérable dans la séreuse, cette polynucléose a pour conséquence une phagocytose des microbes injectés, suffisamment intense et rapide pour permettre aux animaux de résister à l'injection intra-péritonéale de 5 à 8 doses mortelles de microbes pathogènes.

Pour utiliser cette méthode chez l'homme au point de vue chirurgical il faut distinguer deux catégories de cas : ceux dans lesquels l'intervention chirurgicale porte sur un péritoine non infecté, et ceux dans lesquels l'infection de la séreuse existe déjà.

Les premiers sont les seuls dans lesquels puissent se trouver réalisées les conditions expérimentales. On pourrait alors faire une injection de sérum dans le péritoine 24 heures avant l'opération : mais l'injection présente des difficultés ; on risque de piquer l'intestin et d'injecter le sérum dans sa cavité. Il est vrai que l'on pourrait souvent parer à cet accident en faisant l'injection, le malade étant dans la position inclinée de Trendelenburg ; mais nous ne croyons pas qu'il y ait à cela un gros avantage. En effet, au cours de l'opération, l'exsudat péritonéal provoqué par le sérum s'écoulera au dehors, ou sera épongé par les compresses, et le malade perdra le bénéfice de son injection préventive. Il est donc préférable, croyons-nous, de verser le sérum dans le péritoine à la fin de l'opération, avant de refermer l'abdomen. Dans la seconde catégorie de cas, il ne peut être question d'injection préventive de sérum avant l'opération, puisque les malades ont déjà de l'infection péritonéale localisée ou généralisée.

Il faudrait donc, après avoir évacué le liquide septique de l'abdomen, après avoir traité comme il convient les lésions (appendicite, salpingite, perforation intestinale, etc.), assécher aussi complètement que possible la cavité péritonéale, et y verser une certaine quantité de sérum de cheval (20 c. c. par exemple) avant de suturer la paroi. On aurait ainsi enlevé la majeure partie des microbes, et la polynucléose due au sérum viendrait permettre une phagocytose rapide des éléments microbiens restés dans la séreuse.

Nous nous sommes demandé si le sérum de cheval chauffé ne pourrait pas avoir une action agglutinante sur les microbes pathogènes. Nous avons essayé à ce point de vue l'action du

sérum de cheval sur une émulsion de colibacilles: l'agglutination s'est produite au bout de 2 heures avec le sérum de bœuf tandis qu'elle a été presque immédiate avec le sérum de cheval.

Mais les microbes pathogènes que l'on peut rencontrer dans les infections péritonéales sont-ils tous agglutinés par les sérums de cheval? Nous ne saurions le dire. Nous avons essayé de comparer l'action du sérum de cheval sur différentes races de colibacilles et nous avons trouvé des différences considérables.

Dans une première expérience, nous avons pris 5 échantillons de colibacilles de provenances diverses, en cultures de 24 heures sur gélose inclinée. Chaque culture a été émulsionnée dans 10 c. c. d'eau physiologique et nous avons ajouté à 1 c. c. de l'émulsion 1, 3 et 5 gouttes de sérum de cheval chauffé.

L'agglutination s'est produite en 2 heures pour un échantillon, en 24 heures pour 3 autres; elle a complètement fait défaut pour le cinquième.

Nous avons renouvelé la même expérience avec 10 races de *bacterium coli* de différentes provenances, et en n'ajoutant que 1 dixième de goutte, 3 dixièmes de goutte et une goutte de sérum.

L'agglutination a eu lieu en 24 heures avec 1 dixième de goutte de sérum pour 4 échantillons, avec 1 cinquième de goutte pour 2 autres, avec une goutte pour 2 autres encore; enfin 2 races de colibacilles sont restées inagglutinables par le sérum de cheval chauffé.

On ne peut donc compter d'une façon constante sur l'action agglutinante du sérum; mais elle peut exister et dans ce cas elle est très favorable, car elle se manifeste rapidement et donne, pour ainsi dire, le temps aux polynucléaires d'affluer pour phagocyter les germes microbiens.

Convaincu de l'action utile du sérum déposé dans la cavité péritonéale à la fin d'une intervention chirurgicale, certain d'ailleurs de son innocuité, nous l'avons utilisé dans un bon nombre de cas chez l'homme. Les résultats que nous avons obtenus ont été conformes à ce que l'expérimentation permettait de prévoir et nous avons obtenu des guérisons dans des cas d'infection grave et même généralisée du péritoine.

Ces observations cliniques sont l'objet d'un travail que nous publierons prochainement autre part.

Chez quelques-uns de mes malades j'ai observé une éléva-

tion passagère de la température, l'état général restant d'ailleurs excellent; j'ai cherché quelle en pouvait être la cause, je me suis demandé si les injections intra-péritonéales de sérum chauffé ou d'eau physiologique ne pouvaient pas déterminer une élévation thermique par elles-mêmes.

Pour résoudre cette question, j'ai fait des expériences sur les cobayes.

J'ai constaté que les cobayes ayant reçu 4 c. c. d'eau physiologique avaient une élévation thermique à peine appréciable si l'on compare leur température à celle des témoins.

En injectant du sérum de bœuf chauffé, la température s'élève de $9/10$ à $1^{\circ} 6/10$, tandis que celle des témoins ne varie que de $5/10$.

Enfin, l'injection de sérum de cheval chauffé détermine une oscillation thermique qui varie de $7/10$ à $2^{\circ} 4/10$, tandis que la température des témoins, prise en même temps, ne varie que de $1^{\circ} 1/10$ au maximum. En outre, l'élévation thermique ne paraît pas en rapport avec la dose de sérum injectée, puisqu'elle n'a été que de $1^{\circ} 4/10$ pour une injection de 4 c. c. tandis qu'elle était de $2^{\circ} 4/10$ pour 2 c. c.

Encore faut-il ajouter qu'il semble y avoir, dans l'élévation thermique avec une même dose, des variations individuelles assez considérables, puisque chez 2 cobayes ayant reçu chacun 2 c. c. de sérum, la température a monté de $7/10$ chez l'un et de $2^{\circ} 4/10$ chez l'autre. On ne peut donc conclure qu'une seule chose, c'est que l'injection intra-péritonéale de sérum chauffé peut amener une élévation thermique passagère et inconstante.

Nous pouvons donc dire, en résumé, que l'injection intra-péritonéale de sérum de cheval chauffé détermine une polynucléose abondante et une phagocytose assez active pour permettre aux animaux de résister à 5 ou 8 doses mortelles de microbes pathogènes.

Ce sérum a une action agglutinante inconstante et son injection dans le péritoine peut amener une élévation thermique passagère et sans gravité. Chez l'homme, il peut rendre de grands services dans les opérations abdominales, à la fin desquelles on le verse dans le péritoine, soit pour combattre une infection possible, soit pour combattre une infection existant déjà avant l'opération.

Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur

EN 1903

PAR M. J. VIALA

Préparateur au service antirabique.

Pendant l'année 1903, 630 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur. 4 sont mortes de rage, soit une mortalité totale de 0,65 0/0. Mais chez 2 d'entre elles, la rage s'est déclarée moins de 15 jours après la fin du traitement, elles doivent être défalquées pour le calcul de la mortalité.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées.....	628
Morts.....	2
Mortalité.....	0,32 0/0

Il est bon de faire remarquer que le chiffre des personnes traitées est le plus faible constaté depuis le fonctionnement du service.

Ceci tient à deux causes : d'abord, à la création de services antirabiques à Lyon, Marseille, Bordeaux, Lille, Montpellier, et en second lieu aux mesures prises par la Préfecture de police contre les chiens errants.

Ces mesures sur la police des chiens, bien qu'incomplètes, ont déjà produit des résultats appréciables ; mais dès qu'elles sont abandonnées, les cas de rage augmentent dans le département de la Seine. C'est ce que nous constatons déjà au début de cette année 1904.

Ces simples remarques font voir combien il serait facile, avec de la constance et de la volonté, de diminuer et presque de faire disparaître les chiens enragés. Et aussi quelle recrudescence de rage il y a, dès que toutes mesures de prophylaxie sont abandonnées.

Chiffres fournis par les statistiques des années précédentes .

ANNÉES	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
1886	2671	25	0.94 0/0
1887	1770	14	0.79
1888	1622	9	0.55
1889	1830	7	0.38
1890	1540	6	0.32
1891	1359	4	0.25
1892	1790	4	0.22
1893	1648	6	0.36
1894	1387	7	0.50
1895	1520	5	0.33
1896	1308	4	0.30
1897	1521	6	0.39
1898	1465	3	0.20
1899	1614	4	0.25
1900	1420	4	0.35
1901	1321	6	0.38
1902	1103	2	0.18
1903	628	2	0.32

II

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants :

Tableau A : la rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B : la rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C : l'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories de personnes :

	MORSURES À LA TÊTE			MORSURES AUX MAINS			MORSURES AUX MEMBRES			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité	Traités	Morts	Mortalité	Traités	Morts	Mortalité	Traités	Morts	Mortalité
Tableau A.....	7	1	14.2	72	»	»	37	»	»	116	1	0.86
Tableau B.....	17	»	»	128	»	»	79	»	»	224	»	»
Tableau C.....	14	»	»	129	»	»	135	1	0.74	288	1	0.34
	38			239	»	»	251			628	2	0.32

III

Au point de vue de leur nationalité, les 630 personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

Maroc.....	1
Suisse.....	1
Hollande.....	5
Turquie.....	2
Angleterre.....	1

Soit 10 étrangers et 620 Français.

Voici la répartition par départements des 620 Français.

Il ne faut pas oublier, dans la comparaison avec les tableaux antérieurs, que 3 instituts antirabiques fonctionnent aujourd'hui qui n'existaient pas autrefois : Lille, Marseille, Montpellier, Lyon, Bordeaux, drainent les mordus des régions environnantes.

DEPARTEMENTS

Aisne.....	2	Gers.....	4	Oise.....	5
Allier.....	9	Ile-et-Vilaine.....	6	Orne.....	8
Alpes (Basses-).....	1	Isère.....	1	Pas-de-Calais.....	2
Alpes-Maritimes.....	1	Indre.....	10	Puy-de-Dôme.....	16
Ardeche.....	2	Indre-et-Loire.....	6	Pyrénées-Orientales.....	1
Aveyron.....	5	Jura.....	1	Pyrénées (Hautes-).....	2
Bouches-du-Rhône.....	1	Loire (Haute-).....	4	Sarthe.....	3
Cantal.....	20	Loire-Inférieure.....	14	Savoie (Haute-).....	5
Calvados.....	7	Loiret.....	2	Sèvres (Deux-).....	8
Cher.....	6	Loir-et-Cher.....	4	Seine-et-Marne.....	3
Charente.....	4	Lot.....	7	Seine-Inférieure.....	29
Charente-Inférieure.....	6	Lot-et-Garonne.....	0	Seine-et-Oise.....	30
Côtes-du-Nord.....	13	Maine-et-Loire.....	3	Seine.....	178
Corrèze.....	30	Manche.....	6	Somme.....	16
Creuse.....	15	Mayenne.....	8	Vaucluse.....	1
Dordogne.....	4	Meurthe-et-Moselle.....	2	Vendée.....	6
Eure.....	2	Meuse.....	4	Vienne.....	7
Eure-et-Loir.....	5	Morbihan.....	6	Vienne (Haute-).....	9
Finistère.....	51	Nièvre.....	8	Yonne.....	1
Garonne (Haute-).....	11	Nord.....	1		

PERSONNES TRAITÉES MORTES DE RAGE MOINS DE 15 JOURS APRÈS LA FIN
DU TRAITEMENT

D'H... Jacques, 9 ans, chez ses parents, à Fouras (Charente-Inférieure) : mordu à la jambe droite, 2 plaies énormes ayant déchiré les muscles; ces plaies s'étendent aux deux tiers de la circonférence de la jambe.

Le chien a été reconnu enragé par un vétérinaire.

D'H... a été traité du 28 juillet au 11 août.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 16 août, il est mort le 22 août.

Le même chien a mordu deux autres personnes qui ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur et qui se portent bien : ces derniers avaient des morsures beaucoup moins graves que D'H...

A... Charles, 30 ans, garçon laitier, boulevard Victor-Hugo, à Clichy (Seine) : mordu le 15 février à la main droite, 3 morsures profondes à la face dorsale.

Le chien a été reconnu enragé par un vétérinaire.

A... a été traité du 16 février au 5 mars.

La rage a débuté par de fortes douleurs à la main droite. Il est mort le 15 mars.

PERSONNES TRAITÉES MORTES DE RAGE APRÈS LE TRAITEMENT

B... André, 5 ans, chez ses parents, à Villemomble (Seine) : mordu à la joue droite, 1 forte morsure pénétrante, par un chien errant.

B... est traité du 5 au 25 mars.

Un chien mordu en même temps que B... est mort de rage le 12 avril.

Le 27 avril, l'enfant B... est mouillé toute la journée, il rentre le soir frissonnant. Le 28 avril, il boit et mange difficilement. Le 29 avril, il est amené à l'hôpital Pasteur; on constate de l'aérophobie et de l'hydrophobie. Il succombe dans la nuit du 29 au 30 avril.

Le bulbe de B..., inoculé, sous la dure-mère, à plusieurs lapins, ne leur a pas donné la maladie. Ces animaux ont été gardés bien portants pendant plus de 7 mois.

C... Constant, 7 ans, chez ses parents, rue Clignancourt, à Paris : mordu le 13 septembre à la cuisse gauche par un chien errant, est traité du 13 au 30 septembre, meurt le 25 octobre.

Le bulbe de C..., inoculé sous la dure-mère à des lapins, a donné la rage le 15^e jour.

Le gérant : G. MASSON.